# 北海道大学
# 水産学部研究彙報

第5巻　第1号

# BULLETIN
# OF THE
# FACULTY OF FISHERIES
# HOKKAIDO UNIVERSITY

Vol. 5　No. 1

北海道大学水産学部
函館市
昭和29年5月

FACULTY OF FISHERIES, HOKKAIDO UNIVERSITY
HAKODATE, JAPAN
MAY, 1954

# 目　　次

# COPEPODS COLLECTED ON THE WHALING GROUNDS OFF NORTHERN JAPAN AND AROUND THE BONIN ISLANDS

Masateru ANRAKU
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

## Introduction

Since Brady (1883) reported on the pelagic copepods in the western Pacific adjacent to Japan in the Challenger Expedition, 1873–76, copepod fauna in this region has been investigated by several Japanese workers. Sato (1913) made research around Hokkaido, Marukawa (1921) in the northern Pacific near Japan, and Tanaka (1935, 1937, 1938, 1953) in the Izu region. In 1937 Mori published a monograph of copepods from waters neighbouring Japan. Honjo (1951) gave an account of copepods from the Izu Islands region, and Matsue & Komaki (1952) on the materials from the same region. The author has made investigations on plankton copepods off Sanriku (Anraku, 1952), in the Oshoro Bay, west coast of Hokkaido (Anraku, 1953), and in the Okhotsk Sea (Anraku, 1954).

The present paper is a report on the faunistic investigation of plankton copepods collected from the whaling grounds in the northwestern Pacific and around the Bonin Islands in 1951 and 1952 inclusive.

The author wishes to express his hearty thanks to Professor Sigeru Motoda, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, for valuable suggestions rendered during the course of his work. He also desires to acknowledge his indebtedness to Dr. Tokiharu Abe, of the Tokai Regional Fisheries Research Laboratory, for providing him facilities of the present investigation. Thanks are also due to the Committee for the Improvement of Equipment of Whaling Vessels for kindly placing materials at his disposal.

## Northwestern Pacific

In 1951 the collections were made by the catcher boat, Toshi Maru No. 3, at thirty-four positions (fig. 1) from August 14 to September 2. The net, made of material nearly equal to no. 3 bolting cloth, 45 cm in mouth diameter, was hauled from 150 metre depth to the surface at every station. The collections in 1952, were made by the catcher boat, Konan Maru No. 6, at twenty-nine positions (fig. 1) from August 30 to September 13, and the hauls were made from either 100 or 150 metre depth to the surface.

From the materials more than seventy species of copepods were identified (table 1). Often the warm water type of copepod was represented by such species as *Copilia mirabilis*, *Sapphirina nigromaculata*, *Paracalanus aculeatus*, *Corycaeus*

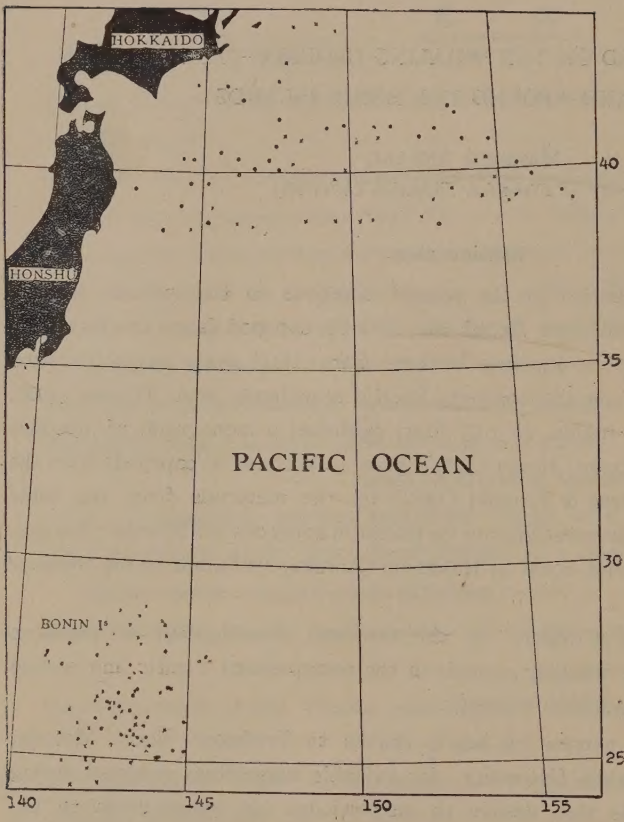



Fig. 1. Chart showing the positions of collection in 1951 (●) and 1952 (×)

*speciosus*, *Setella gracilis*, *Euterpe acutifrons*, *Labidocera acuta* and *Temora stylifera*, while the cold water type was represented by such species as *Calanus cristatus*, *C. plumchrus*, *Eucalanus bungii bungii*, *Pseudocalanus minutus* and *Candacia columbiae.* The species number of warm water type was comparatively large, though less in individual number, while the species number of cold water type was very small, each species being composed of abundant individuals.

The adult forms of neither *Calanus cristatus* nor *Calanus plumchrus* were found in these collections, possibly due to the shallow haul. The most part of the above species collected were those of copepodid stage V. Yanagisawa (1942) mentioned that the southern species, such as *Eucalanus subcrassus*, were found even at a staion situated 39°N, 143°E. In the present materials there were many southern forms of copepods additional to *Eucalanus subcrassus* even in the region between 41°N and 42°N.

However, *Gaidius*, *Gaetanus*, *Pleuromamma* and *Heterorhabdus* and *Phyllopus* which were found in the previous collection in this region (Anraku, 1952), were rare or absent in the present materials, probably due to the shallow haul in the present case as compared with the previous work. Among the twenty-eight species of copepods reported by Marukawa (1921) from the northwestern Pacific near Japan, the following twelve species could not be found from the present materials; viz., *Calanus pauper*, *Eucalanus oculanus*, *Euchaeta tonsa*, *Labidocera wollastoni*, *L. pavo*, *Metridia longa*, *Pontella chierchiae*, *Corycaeus danae*, *C. venustus*, *Sapphirina gemma*, *Scolecithrix danae* and *Pseudolovenula magna*. On the other hand, more

Table 1. List of species collected in the northwestern Pacific

| | |
|---|---|
| *Calanus plumchrus* MARUKAWA* | *Metridia lucens* BOECK |
| *C. cristatus* KRÖYER | *Lucicutia flavicornis* (CLAUS) |
| *C. helgolandicus* (CLAUS) | *Heterorhabdus papilliger* (CLAUS) |
| *C. tenuicornis* DANA | *Candacia bipinnata* GIESBRECHT |
| *C. minor* (CLAUS) | *C. columbiae* CAMPBELL** |
| *C. vulgaris* (DANA) | *C.* spp. |
| *C. darwinii* (LUBBOCK) | *Acartia negligens* DANA |
| *Eucalanus elongatus* (DANA) | *A. danae* GIESBRECHT |
| *E. bungii bungii* JOHNSON | *Labidocera japonica* MORI |
| *E. attenuatus* (DANA) | *L. acuta* (DANA) |
| *E. subcrassus* GIESBRECHT | *L. detruncata* (DANA) |
| *E.* sp. | *Oithona plumifera* BAIRD |
| *Rhincalanus nasutus* GIESBRECHT | *O. similis* CLAUS |
| *Paracalanus aculeatus* GIESBRECHT | *O.* spp. |
| *P. parvus* (CLAUS) | *Setella gracilis* DANA |
| *Acrocalanus gracilis* GIESBRECHT | *Microsetella norvegica* (BOECK) |
| *Clausocalanus pergens* FARRAN | *Clytemnestra rostrata* (BRADY) |
| *C. furcatus* (BRADY) | *Oncaea venusta* PHILIPPI |
| *Pseudocalanus minutus* (KRÖYER) | *O. media* GIESBRECHT |
| *Bradyidius armatus* (BRADY) | *O. conifera* GIESBRECHT |
| *Euchaeta marina* (PRESTANDREA) | *O. mediterranea* CLAUS |
| *E.* sp. | *O.* sp. |
| *Scolecithricella minor* (BRADY) | *Sapphirina nigromaculata* CLAUS |
| *Scolecithrix* sp. | *S.* sp. |
| *Phaenna spinifera* CLAUS | *Copilia mirabilis* DANA |
| *Centropages bradyi* WHEELER | *C. quadrata* DANA |
| *Temora tubinata* (DANA) | *Corycaeus anglicus* LUBBOCK |
| *T. discaudata* GIESBRECHT | *C. speciosus* DANA |
| *T. stylifera* (DANA) | *C.* spp. |

*According to the communications of Mr. Z. Nakai and Dr. O. Tanaka *Calanus plumchrus* Marukawa 1921 is quite identical with *C. tonsus* Brady 1883.

**The author is indebted to Dr. O. Tanaka for kindness in informing him that *Candacia pacifica* Mori 1937 was pointed out by Davis (1949, Univ. Wash. Publ. Zool., 14) to be the synonym of *C. columbiae* Campbell 1929.

than thirty species found in the present investigation were not described in the list of Marukawa (1921).

The number of individuals of the principal copepods occurring in 1951 is given in table 4. The samples from stations 10, 19, 21 and 27 were mainly composed of

such cold water species as *Calanus plumchrus*, *C. cristatus* and *Eucalanus bungii bungii*, indicating the prevailing cold Oyashio Current. The warm water species, such as *Sapphirina*, did not appear in those stations. However, the two types of copepods have intermingled at stations 4, 25 and 38. The total number of individuals in the areas eastward from station 32 was very small, there being collected only a few individuals of *Temora* and *Corycaeus*.

*Thalassiothrix mediterranea* var. *pacifica*, one of the temperate or south temperate species of diatom, was abundantly found in each of the seventeen stations. This species is one which has been reported by Cupp (1943) as a new variety distributed off southern California and in the Gulf of California, sometimes in moderately large numbers.

The individual number of the principal copepods occurring at each position of 1952 is given in table 5. The difference of copepod fauna between 1951 and 1952 was shown by the presence of *Copilia mirabilis* and *Calanus vulgaris*, as well as abundant occurrence of other warm water species, but this may have no significance but that the period and latitude of collection differed in these two years.

Generally, the warm water species occurred in richness in areas southward from 41°N, and in these areas, the cold water species, *Calanus plumchrus* and *Calanus cristatus*, greatly decreased in number. The warm water species entirely disappeared from the northern positions, off Shikotan Island (St. 27, 28, 29, 30 and 32), while a large number of *Calanus plumchrus*, *C. cristatus* and *Eucalanus bungii bungii* were found in these positions.

The monotonous communities of diatoms composed of *Chaetoceros atlanticus* and *Ch. concavicornis*, which are both cold water species, covered the areas of positions 28 and 32.

### Around the Bonin Islands

In 1951 the collections were made by the Shinyo Maru, training ship of the Tokyo University of Fisheries, at forty-nine positions (fig. 1) from April 23 to May 15. The net was hauled from 150 metre depth to the surface, but sometimes from 50 metres. The collections in 1952 were made by the catcher boat, Seki Maru No. 11, on forty positions (fig. 1) from June 27 to July 12. The hauls were made from 100 metre depth to the surface.

About eighty species of copepods were identified (table 2); half of them belonged to the warm water species.

Brady (1883) mentioned sixteen species of copepods gathered from the southern waters of Japan. Among the species which he has listed, *Aetideus giesbrechti*, *Scolecithrix danae*, *Centropages violaceus*, *Pontella plumata* (=*Pontellina plumata*) and *Setella gracilis* were found in the present investigation. The following eleven species did not appear in the present materials though they were listed by Brady (1883): *Calanus propinquus*, *C. tonsus*, *Eucalanus setiger*, *Rhincalanus gigas*, *Euchaeta hessei*, *Leuckartia scapularis*, *Candacia pectinata*, *Pontella detruncata*,

Table 2. List of species collected around the Bonin Islands

*Calanus helgolandicus* (CLAUS)
*C. tenuicornis* DANA
*C. minor* (CLAUS)
*C. vulgaris* (DANA)
*C. darwinii* (LUBBOCK)
*C. pauper* GIESBRECHT
*C. gracilis* (DANA)
*Eucalanus elongatus* (DANA)
*E. attenuatus* (DANA)
*E. crassus* GIESBRECHT
*E. subcrassus* GIESBRECHT
*E. mucronatus* GIESBRECHT
*Rhincalanus nasutus* GIESBRECHT
*R. cornutus* DANA
*Mecynocera clausi* THOMPSON
*Paracalanus aculeatus* GIESBRECHT
*P. parvus* (CLAUS)
*Acrocalanus gracilis* GIESBRECHT
*Clausocalanus furcatus* (BRADY)
*C. arcuicornis* (DANA)
*C. pergens* FARRAN
*Ctenocalanus longicornis* MORI
*Aetideus armatus* (BOECK)
*A. giesbrechti* CLEVE
*Gaetanus minor* FARRAN
*Euchirella* sp.
*Euchaeta marina* (PRESTANDREA)
*E. longicornis* GIESBRECHT
*Scaphocalanus pacificus* MORI
*Scolecithricella orientalis* MORI
*S.* spp.
*Scolecithrix danae* (LUBBOCK)
*Phaenna spinifera* CLAUS
*Centropages bradyi* WHEELER
*C. violaceus* (CLAUS)
*Temora stylifera* (DANA)
*T.* sp.
*Pleuromamma gracilis* (CLAUS)
*P. abdominalis* (LUBBOCK)
*P. xiphias* (GIESBRECHT)
*Lucicutia flavicornis* (CLAUS)
*L. ovalis* WOLFENDEN
*Heterorhabdus papilliger* (CLAUS)
*Haloptilus ornatus* (GIESBRECHT)
*H. acutifrons* (GIESBRECHT)
*H. oxycephalus* (GIESBRECHT)
*Candacia bispinosa* CLAUS
*C. bipinnata* GIESBRECHT
*C. longimana* CLAUS
*C. truncata* (DANA)
*C. aethiopica* DANA
*Pontellina plumata* (DANA)
*Acartia clausi* GIESBRECHT
*A. negligens* DANA
*Labidocera acuta* (DANA)
*L. detruncata* (DANA)
*Oithona plumifera* BAIRD
*O. similis* CLAUS
*O. nana* GIESBRECHT
*O. fallax* FARRAN
*O.* sp.
*Setella gracilis* DANA
*Microsetella rosea* (DANA)
*Euterpe acutifrons* (DANA)
*Clytemnestra rostrata* (BRADY)
*Oncaea venusta* PHILIPPI
*O. media* GIESBRECHT
*O. mediterranea* CLAUS
*O.* sp.
*Lubbockia* sp.
*Sapphirina nigromaculata* CLAUS
*S.* spp.
*Copilia mirabilis* DANA
*C.* spp.
*Corycaeus speciosus* DANA
*C. anglicus* LUBBOCK
*C. curtus* FARRAN
*C. concinnus* DANA
*C.* spp.

*Oncaea obtusa* and *Phyllopus bidentatus*.

The composition of the copepod community of the two years as studied by the present author does not show any striking difference. Individual number occurring at each position of 1951 and 1952 is listed in tables 6 and 7 respectively.

### Considerations of the occurrence of warm water copepods at various latitudes

The distribution of the warm water copepods has often been studied from the viewpoint of zoogeography (Ekman, 1953, pp. 324-332). Three genera, *Sapphirina*, *Copilia* and *Corycaeus*, have been considered to be those which are mainly distributed in the warmer latitudes.

The number of the positions where the above genera have occurred is tabulated against the total number of positions of net haul divided into various latitudes (table 3).

Table 3. Number of positions at which three most common grnera of warm water copepods were present in 1951—52 inclusive. Figures in parentheses are total number of positions where net haul was made.

| Latitude (N) | *Corycaeus* | *Sapphirina* | *Copilia* |
|---|---|---|---|
| 43-44 | 0 (3) | 0 (3) | 0 (3) |
| 42-43 | 0 (4) | 0 (4) | 0 (4) |
| 41-42 | 0 (7) | 0 (7) | 0 (7) |
| 40-41 | 9 (19) | 0 (19) | 0 (19) |
| 39-40 | 13 (18) | 1 (18) | 1 (18) |
| 38-39 | 8 (11) | 2 (11) | 4 (11) |
| 28-29 | 8 (9) | 6 (9) | 7 (9) |
| 27-28 | 17 (17) | 9 (17) | 6 (17) |
| 26-27 | 23 (24) | 9 (24) | 12 (24) |
| 25-26 | 31 (31) | 16 (31) | 15 (31) |
| 24-25 | 8 (8) | 0 (8) | 6 (8) |

It may be clearly seen from this table that the above warm water genera were distributed at almost every position situated in the southern latitudes whilst the occurrences were few in the positions of northern latitudes. *Corycaeus* was the most numerous in number of individuals among the three and it did not occur in the area on the north of 41°N, while it appeared all stations on the south of 28°N. The number of individuals of both *Sapphirina* and *Copilia* was smaller than that of *Corycaeus* throughout the observations. These two had entirely disappeared in the region northwards of 40°N, though they occurred often in the southern latitudes.

The distribution area of the above copepods is possibly responsible to the

flowing up of the warm Kuroshio Current in the North Pacific.


## Summary

1. More than one-hundred species of pelagic copepods were identified from the materials sampled off northern Japan and around the Bonin Islands in 1951 and 1952.
2. Typical cold water copepods (*Calanus cristatus*, *C. plumchrus*, *Eucalanus bungii bungii*, *Pseudocalanus minutus* and *Candacia columbiae*) occurred richly in the region northward from 38°N, while typical warm water copepods (*Copilia* spp., *Sapphirina* spp., *Corycaeus* spp., *Calanus minor*, *C. vulgaris*, *C. darwinii*, *C. pauper*, *Eucalanus elongatus*, *E. crassus*, *E. subcrassus*, *Mecynocera clausi*, *Paracalanus aculeatus*, *Aetideus giesbrechti*, *Temora stylifera*, *T. tubinata*, *T. discaudata*, *Labidocera acuta*, *L. detruncata*, *Setella gracilis*, *Euterpe acutifrons*) were commonly found in the southern region, having not occurred northward from 42°N.
3. The number of positions at which three genera of the typical warm water copepods (*Copilia*, *Sapphirina* and *Corycaeus*) have occurred was decreased northward, these copepods having occurred at nearly all positions of southern latitudes.


## Literature cited


Anraku, M. (1952). Plankton copepods collected by R. S. "Yushiwo-maru" in Pacific waters to the east of northern Japan during her cruise in November 1948. *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* 3 (1), 31—39, (in Japanese).

………………(1953). Seasonal distribution of pelagic copepods at Oshoro Bay, west coast of Hokkaido. *Ibid.* 3 (3), 187—192.

………………(1954). Distribution of plankton copepods off Kitami, Hokkaido, in Okhotsk Sea in summer, 1949 and 1950. *Ibid.* 4 (4), 249—254.

Brady, G. S. (1883). Report on the copepoda collected by H. M. S. Challenger during the years 1873—76. *Rep. Sci. Result Voyage H. M. S. Challenger.* Zool. 8, 1—142.

Cupp, E. E. (1943). Marine plankton diatoms of the west coast of north America. *Bull. Scripps Inst. Oceanogr., Univ. Cali.* 5 (1), 1—138.

Ekman, S. (1953). Zoogeography of the sea. 417p. London, Sidgwick and Jackson Ltd.

Honjo, Y. (1951). Distribution of copepoda in the adjacent seas of the Izu Islands during winter and spring. *Jour. Oceanogr. Soc. Jap.* 8 (3—4), 77—87, (in Japanese).

Marukawa, H. (1921). Plankton list and some new species of copepods from the northern waters of Japan. *Bull. l' Inst. Oceanogr. Monaco* 384, 1—15.

Matsue, Y. & Komaki Y. (1953). The feature of the plankton found in the surrounding area of Myojin-sho. Report on the submarine eruption of Myojin-sho. *Jour. Tokyo Univ. Fish.* 40 (special number 2), 22—25.

Sato, T. (1913). The pelagic copepoda. Suisan-Chosa-Hokoku (*Rep. Hokkaido Fish. Exp. Sta.*), 1, 1—79, (in Japanese).

Tanaka, O. (1935). Copepods in Sagami Bay. II. Fam. Candacidae. *Suisangakkaiho* 6 (4), 210—227, (in Japanese).

………………(1937). Copepods from the deep water of Suruga Bay. *Jap. Jour. Zool.* 7 (2), 251—271.

………………(1938). Note on *Calanus cristatus* Krøyer. *Ibid.* 7 (4), 599—601.

………………(1953). The pelagic copepods of the Izu region. *Rec. Oceanogr. Wks. Japan*, N. S. 1 (1), 126—137.

Yanagisawa, T. (1942). Plankton in the vicinity of Kurile Islands. *Jour. Oceanogr. Kobe* 13 (3), 250—258.

Table 4. Result of collection from northwestern Pacific in 1951

| station | 1 | 2 | 4 | 6 | 7 | 8 | 10 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| date | Aug. 14 | 15 | 16 | 16 | 17 | 17 | 19 | 19 | 20 | 20 | 20 | 21 | 21 | 22 | 22 | 22 | 23 | 27 | 27 | 28 | 28 | 29 | 29 | 29 | 30 | 30 | 31 | 31 | Sept. 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 2 |
| time | 7:30 p.m. | 12:30 p.m. | 8:00 a.m. | 6:00 p.m. | 7:00 a.m. | 12:30 p.m. | 8:00 a.m. | 7:00 p.m. | 8:00 a.m. | 12:30 p.m. | 7:00 p.m. | 12:30 p.m. | 7:00 p.m. | 8:00 a.m. | 12:00 m. | 7:00 p.m. | 2:00 p.m. | 1:00 p.m. | 7:00 p.m. | 8:45 a.m. | 4:00 p.m. | 10:00 a.m. | 1:00 p.m. | 7:00 p.m. | 8:00 a.m. | 6:00 p.m. | 8:00 a.m. | 3:30 p.m. | 7:00 a.m. | 12:30 p.m. | 4:00 p.m. | 6:30 a.m. | 12:30 p.m. | 5:30 p.m. |
| depth (m) | 0~150 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 0~100 | 〃 | 0~150 | 0~100 | 0~150 | 〃 | 0~100 | 0~150 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 |
| *Calanus plumchrus* | | 2 | 3 | 16 | | | 7 | | | | 2 | | | | 18 | 5 | 48 | 4 | | | 4 | 35 | | | | | | | | | | | | |
| *C. cristatus* | | | | 3 | 2 | | | 1 | | | 3 | 5 | | 1 | 5 | 5 | | 1 | | | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| *C. helgolandicus* | 6 | 9 | 15 | 24 | 30 | 11 | 39 | 120 | | 20 | 44 | 160 | 12 | 14 | 10 | 2 | 30 | 16 | 2 | | 6 | 2 | | | | | | | | | | | | 1 |
| *C. tenuicornis* | 2 | 10 | | 8 | | 1 | 1 | | | 1 | | | 1 | | | 2 | | 2 | 1 | 3 | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| *C. minor* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| *Eucalanus bungii bungii* | | 10 | 32 | 8 | 15 | | 39 | | | 2 | 4 | 6 | 3 | | 8 | 9 | 20 | 16 | 3 | 4 | 6 | 15 | 1 | | | | 7 | | 2 | | | 6 | | 1 |
| *E. attenuatus* | | | | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *E.* sp. | | | | | | | | | | | | | | 12 | | | | | | | | | | | 2 | 2 | | | | | | | | |
| *Rhincalanus nasutus* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| *Bradyidius armatus* | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Euchaeta* sp. | 1 | 1 | | | | 1 | 1 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | |
| *Scolecithricella minor* | | | | 16 | 5 | | | | | | 5 | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | | |
| *Temora* spp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | | 1 | | | | | 2 | | |
| *Metridia lucens* | | 3 | | 24 | 32 | | | 16 | | | 15 | 1 | | 6 | 17 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| *Candacia bipinnata* | 3 | | | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *C. columbiae* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | |
| *Labidocera* spp. | 2 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| other microcalanoida | rr | r | cc | cc | + | rr | | r | r | r | rr | r | r | r | cc | + | c | r | r | + | r | rr | rr | rr | rr | + | c | r | rr | rr | rr | + | | + |
| *Oithona* spp. | rr | + | cc | cc | + | rr | | r | r | r | r | r | r | r | cc | + | c | r | r | + | r | rr | rr | rr | rr | r | c | r | rr | rr | rr | + | | + |
| *Sapphirina* spp. | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Corycaeus* spp. | 5 | | 8 | | | 1 | | 8 | 4 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | 3 | 1 | | | | | | |

Table 5. Result of collection from northwestern Pacific in 1952

| station | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 32 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| date | Aug. 30 | 30 | 30 | 31 | 31 | Sept. 1 | 1 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 6 | 6 | 7 | 7 | 8 | 8 | 8 | 9 | 11 | 11 | 12 | 13 |
| time | 9:30 a.m. | 1:00 p.m. | 5:30 p.m. | 9:00 a.m. | 5:30 p.m. | 1:00 p.m. | 5:30 p.m. | 9:00 a.m. | 1:10 p.m. | 9:00 a.m. | 1:00 p.m. | 5:30 p.m. | 1:00 p.m. | 5:30 p.m. | 7:00 a.m. | 12:40 p.m. | 5:00 p.m. | 1:00 p.m. | 5:00 p.m. | 8:30 a.m. | 1:00 p.m. | 9:00 a.m. | 1:00 p.m. | 5:30 p.m. | 9:00 a.m. | 9:00 a.m. | 6:00 p.m. | 1:30 p.m. | 9:30 a.m. |
| depth (m) | 0~150 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 0~100 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 |
| *Calanus plumchrus* | | | 51 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | 65 | | 5 | 440 | 320 |
| *C. cristatus* | 3 | | 5 | 6 | 1 | | | | | | | 2 | | | | | | | | 15 | 8 | | 24 | 1 | 16 | 8 | | 18 | 40 |
| *C. helgolandicus* | 72 | 144 | | 240 | 18 | | 15 | | 16 | | 60 | 4 | 8 | 4 | | | | | 20 | 44 | 12 | 68 | 640 | 7 | | 8 | | 24 | 210 |
| *C. tenuicornis* | 5 | 16 | | | | 16 | | 17 | | | | | 10 | | | | 1 | | | | 4 | | | 2 | | | | | |
| *C. minor* | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *C. vulgaris* | | | | | | | 64 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Eucalanus elongatus* | | | | | | | | | | 11 | | | | | | | 11 | 3 | 8 | | | | | | | | | | |
| *E. bungii bungii* | 4 | | | 128 | 6 | | | 2 | | | | | | | | | | | | 28 | 8 | 20 | 100 | 6 | 48 | 160 | 16 | 24 | 220 |
| *E. attenuatus* | | 2 | | | | | 1 | | 24 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *E. subcrassus* | | 3 | | | | | | | | | | | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *E.* sp. | | | | | | 3 | | | | 88 | 16 | 3 | | 24 | 16 | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| *Rhincalanus nasutus* | | | | | | | | | | 6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Euchaeta marina* | | | | | | | | | | | | | 70 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *E.* sp. | | | 1 | 1 | | | 1 | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | |
| *Scolecithricella minor* | 5 | | | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Scolecithrix* sp. | | | | | | | 20 | 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Phaenna spinifera* | | | | | | | 1 | 20 | 16 | 5 | | | | 16 | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Temora* spp. | | | | | | | 1 | 1 | 10 | 6 | 8 | 1 | | 5 | 1 | 4 | 1 | | 24 | 4 | | | | | | | | | |
| *Metridia lucens* | | | 90 | 15 | 60 | | 10 | | | 4 | | 12 | 8 | | | | | | | | 1 | 4 | | 6 | | | 160 | | |
| *Lucicutia flavicornis* | | | | | | | | 15 | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Heterorhabdus papilliger* | | | | | | 10 | | | | 2 | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Candacia bipinnata* | | | | | | | | | 1 | | 3 | | 2 | 1 | | | | | 5 | 8 | | 1 | | | | | | | |
| *C. columbiae* | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *C.* sp. | | | | | | 1 | | | | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Labidocera* spp. | | | | | | | 2 | | 8 | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | |
| other microcalanoida | c | rr | r | rr | r | r | rr | r | c | r | c | rr | r | r | r | r | rr | + | + | + | r | r | rr | rr | rr | + | + | r | cc |
| *Oithona* spp. | + | rr | r | rr | r | r | rr | r | c | r | c | rr | r | r | r | r | rr | + | + | + | r | r | rr | rr | rr | c | c | r | cc |
| *Setella gracilis* | | 1 | | | | 1 | 2 | | | | | | 2 | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Sapphirina* spp. | 4 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Copilia* spp. | | 1 | | | | 2 | 1 | | | 2 | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | |
| *Corycaeus* spp. | 3 | 10 | | | | 32 | 10 | 5 | 10 | 4 | 16 | 2 | 8 | | | 3 | | | | 12 | 4 | 10 | | | | | | | |

Table 7. Result of collection around the Bonin Islands in 1952

| station | 1 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| date | Jun. 27 | 27 | 28 | 28 | 28 | 29 | 29 | 30 | 30 | 30 | Jul. 1 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 6 | 6 | 6 | 7 | 7 | 8 | 8 | 8 | 9 | 9 | 9 | 10 | 10 | 10 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 |
| time | 8:00 a.m. | 7:00 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 7:00 p.m. | 10:00 a.m. | 7:00 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 9:30 a.m. | 6:30 p.m. | 8:00 a.m | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 2:00 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 8:00 a.m. | 4:30 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 8:10 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 8:00 a.m. | 2:00 p.m. | 6:30 p.m. | 8:00 a.m. | 4:30 p.m. |
| *Calanus helgolandicus* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *C. darwinii* | | | | 16 | | | 64 | | | 40 | 64 | | | 40 | 16 | 24 | 32 | 24 | 16 | | 24 | | | 24 | | 4 | 8 | 32 | | 24 | | 32 | | 40 | | | 24 | | 32 | 24 |
| *C. minor* | 16 | 24 | 32 | 16 | 16 | 8 | 16 | 2 | 12 | 40 | 80 | 8 | 16 | 16 | 8 | | | 96 | | 56 | 16 | 40 | 80 | 16 | 16 | 4 | 4 | 16 | 24 | 32 | 32 | 16 | 24 | 40 | 24 | 4 | 32 | 24 | 40 | 16 |
| *C. tenuicornis* | 16 | 8 | 4 | 8 | 8 | 8 | 8 | 8 | | 32 | 32 | 16 | 8 | 16 | 16 | 8 | 16 | 16 | | | 8 | | 16 | 16 | 24 | | 8 | 8 | 8 | | 16 | 16 | 8 | 16 | 24 | 4 | 24 | 16 | | 4 |
| *C. gracilis* | | 8 | 2 | | 8 | 2 | | | 1 | 16 | 16 | | 8 | 8 | | | | 8 | 2 | 2 | 4 | 16 | 8 | 8 | 8 | | 4 | 8 | 32 | 16 | | 8 | 8 | | | 4 | 16 | 4 | | 4 |
| *Eucalanus elongatus* | | | | | | | | | | | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 16 | 24 | 8 | 64 | 40 | | | | | |
| *E. attenuatus* | 4 | 2 | 16 | | 8 | | 4 | 4 | | 2 | | | | | | 4 | | 40 | 32 | | 4 | 16 | 8 | 8 | 4 | 4 | | | 16 | 16 | 8 | | | | | | 16 | 16 | 16 | 8 |
| *E. crassus* | | | | | | | | | | | 16 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *E. mucronatus* | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Rhincalanus nasutus* | | | | | | | | | | | 16 | | | | 16 | | | 16 | 16 | | | 16 | | 24 | 4 | | | | | | | | | | | | | | 16 | 8 |
| *Mecynocera clausi* | 160 | 16 | 64 | 32 | 48 | 40 | 64 | 16 | 24 | 80 | 90 | 16 | 48 | 32 | 4 | 96 | 120 | 72 | 80 | 40 | 24 | 56 | 81 | 64 | 24 | 24 | 16 | 24 | 24 | 48 | 16 | 24 | 30 | 328 | 200 | 24 | 120 | 40 | 80 | 16 |
| *Aetideus armatus* | | | | | | | | | | | | | | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *A. giesbrechti* | | 8 | | | 2 | | | 2 | | | | | | | | | | | | 4 | 16 | | | | | | | | | 8 | 8 | 4 | | | | | | | | |
| *Euchirella* sp. | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | |
| *Euchaeta marina* | | 4 | 16 | 8 | 8 | 4 | 32 | 4 | 4 | 32 | 40 | 16 | 16 | 24 | 16 | 4 | 4 | 16 | 4 | | 16 | 8 | 4 | 16 | 4 | | | 16 | 16 | 16 | 16 | 8 | 8 | 16 | 24 | 4 | 8 | 4 | 4 | 4 |
| *E. longicornis* | | | | | | | | | | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | | | | | | | | |
| *Scaphocalanus pacificus* | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Scolecithrix danae* | | | 2 | | 1 | 2 | 2 | | | | 8 | | | | | | 1 | | | | | | | | | 1 | 4 | 8 | | 2 | | | | | | 2 | | | | |
| *Phaenna spinifera* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 2 | | | | | | 1 | | | | |
| *Centropages bradyi* | | | | | | 8 | 16 | 8 | | | | | | 8 | | 24 | | | | | | 8 | | | | | 4 | | | | | | | | 24 | 8 | | 8 | 16 | |
| *Temora* spp. | 2 | | | | | 1 | | | | | | | | | | | 4 | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Pleuromamma gracilis* | | 4 | | | 8 | | 16 | | 4 | 24 | | | | | | | | 24 | | | | | | 8 | | | | | 8 | 8 | | 24 | 8 | | 32 | | | | | |
| *Lucicutia flavicornis* | | 8 | | | 8 | | | 8 | 4 | 24 | 40 | 16 | 24 | 32 | 8 | | | 24 | | | | | | 16 | | | | | | 8 | 16 | 16 | 16 | 32 | | | 24 | | | 16 |
| *L. ovalis* | 4 | | | | | | 16 | | | 16 | 32 | 16 | | | | 8 | 8 | | 16 | 16 | 16 | 16 | | | | | | | 16 | 8 | | | | 16 | 40 | | 16 | 24 | 24 | |
| *Heterorhabdus papilliger* | | | | | | | | | | | | | 8 | 16 | 8 | | 4 | 16 | 16 | | | | 8 | 16 | | | | 16 | 8 | | 8 | 8 | | | | | 8 | | 8 | |
| *Haloptilus ornatus* | | | | 1 | | | | | 1 | | 2 | | 1 | | | | | | | | | | | 1 | | | 1 | 2 | | 1 | 1 | | | | | | | | 1 | 1 |
| *H. acutifrons* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| *Candacia bipinnata* | | | 32 | | | | | | 4 | 16 | 16 | 4 | 8 | | 4 | 16 | 8 | | 8 | 8 | | | 4 | | | 4 | | | | | | | | 32 | 24 | 4 | 4 | | | |
| *C. longimana* | 2 | | | 8 | 4 | 4 | 8 | 4 | | | | | | 8 | | | | | | | | | | 16 | | | 4 | 16 | 8 | 4 | | 4 | 8 | | | | | 4 | 8 | 16 |
| *C. truncata* | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | 16 | | | | 4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Pontellina plumata* | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | 1 |
| *Acartia* spp. | 90 | 24 | 160 | 56 | 80 | 120 | 72 | 56 | 64 | 90 | 64 | 90 | 24 | 36 | 200 | 80 | 120 | 80 | 80 | 160 | 80 | 64 | 200 | 96 | 72 | 36 | 56 | 36 | 56 | 32 | 240 | 96 | 56 | 178 | 160 | 32 | 136 | 56 | 40 | 40 |
| *Labidocera* spp. | 1 | | | | 2 | | 2 | | | | | | | | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | |
| other microcalanoida | 160 | 160 | 480 | 360 | 240 | 200 | 168 | 56 | 96 | 342 | 80 | 80 | 56 | 40 | 32 | 64 | 80 | 50 | 80 | 40 | 40 | 32 | 40 | 80 | 42 | 36 | 56 | 36 | 32 | 80 | 160 | 120 | 56 | 204 | 160 | 32 | 160 | 80 | 120 | 120 |
| *Oithona* spp. | 90 | 24 | 160 | 160 | 120 | 120 | 1280 | 16 | 48 | 80 | 640 | 176 | 400 | 200 | 288 | 90 | 200 | 400 | 400 | 240 | 240 | 240 | 208 | 320 | 64 | 120 | 80 | 480 | 800 | 800 | 1008 | 720 | 200 | 440 | 992 | 120 | 400 | 400 | 560 | 264 |
| *Setella gracilis* | | 2 | | | | | | | | | | | | 1 | | 1 | | | | 1 | | 1 | | | | 1 | 1 | | 4 | 2 | | 1 | | | | 1 | | | 1 | |
| *Microsetella rosea* | | | | | | | | | | 8 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 8 | | | | | | | 8 | | 8 |
| *Oncaea* spp. | 32 | 240 | 1040 | 700 | 368 | 140 | 256 | 40 | 96 | 400 | 960 | 160 | 72 | 160 | 200 | 90 | 120 | 400 | 320 | 416 | 280 | 336 | 240 | 160 | 400 | 120 | 80 | 368 | 440 | 432 | 816 | 352 | 368 | 560 | 568 | 120 | 424 | 400 | 1160 | 264 |
| *Lubbockia* sp. | | | 8 | 8 | | | 8 | | | | | 8 | | 16 | | | | | | | | | | 8 | | | | | | | 8 | | | 4 | | | | | 16 | |
| *Sapphirina* spp. | 2 | | | | | | 1 | | | | 4 | | | 1 | 1 | 4 | 4 | 8 | 4 | 4 | 1 | | | | | | 2 | | | | | | | 4 | 2 | | 2 | 2 | | 2 |
| *Copilia* spp. | 1 | | | 4 | 1 | | | | 1 | | | 2 | 2 | | 1 | 4 | | | 4 | 2 | | 8 | 1 | | 2 | 1 | 4 | 4 | | | 2 | 4 | | 4 | 4 | | 2 | 4 | 4 | 4 |
| *Corycaeus* spp. | 48 | 56 | 176 | 64 | 80 | 64 | 320 | 24 | 48 | 640 | 40 | 80 | 56 | 160 | 200 | 48 | 16 | 72 | 32 | 90 | 32 | 160 | 90 | 80 | 72 | 88 | | 200 | 108 | 144 | 528 | 256 | 160 | 126 | 120 | 30 | 120 | 72 | 128 | 80 |

# ON THE ELECTROPHORETIC DIFFERENCE BETWEEN ACTIVATED AND FERTILIZED EGGS OF THE POND SMELT, *HYPOMESUS OLIDUS* (PALLAS)*

Shigeru HAMANO and Shuichiro KUBO
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

## Introduction

A large number of biochemical studies on activation and fertilization of sea urchin eggs have been made, mostly from the metabolic standpoint. However, little attention has been paid to changes occurring in protein pattern. These changes were first reported by Mirsky [1] who demonstrated that KCl-soluble protein fraction of the unfertilized sea urchin egg becomes insoluble as a result of fertilization. Recently, the analysis of water extract of sea urchin egg by electrophoresis has shown that a new component appears after fertilization but disappears soon. [2]

As compared with the studies on sea urchin egg, those on fish eggs are too few. The activating reaction is the first step of changes in the process of fertilization. This phenomenon is brought about by the entrance of the spermatozoa (normal fertilization) in nature.

The activating reaction can also be induced artificially (physicaly, chemically and mechanicaly).[3] Unfertilized eggs of the pond smelt are easily activated and lose fertilizability within a short time when they are put into water.[4] The morphologial change of the activated eggs caused either by water or by the entrance of spermatozoa (fertilization) is the same. That is to say, there occur the breakdown of the cortical alveoli which are evenly embedded in the cortical protoplasm of the unfertilized egg and the subsequent elevation of the chorion in succession. Although the external changes of activated egg are similar to those of the fertilized egg, internally some changes of different type may occur. The present paper deals with the difference between the activated and fertilized eggs as shown by electrophoresis.

Before proceeding further, the writers wish to express their thanks to Professor S. Kobayashi and Professor K. Yoshimura for their kind suggestions and help. They are also greatly indebted to Professor T. Inukai of the Zoological Institute, Faculty of Agriculture, Hokkaido University, for his kind service in reading the manuscript for publication. Thanks are also due to the Fisheries Association in Ōnuma for making available the materials used.

---

* This work was supported in part by a Grant in Aid for the Miscellaneous Scientific Research from the Ministry of Education.

## Materials and Method

The materials used in this work are eggs of the pond smelt (*Hypomesus olidus* (*PALLAS*)) obtained in Lake Ōnuma in Hokkaido. The eggs were washed repeatedly in isotonic NaCl solution (M/7.5) at 0°C to remove ovarian fluid. The eggs were broken by pressure, and then centrifuged in order to separate as completely as possible the free lipid in form of a deep red supernatant, including oil and egg-membrane (chorion). In this case, the yolk probably includes all other substances other than the oil drops of egg. After separation of the supernatant oil and chorion, the yolk was diluted by 20 times in volume with phosphate buffer solution (pH 7.0), and was left dialyzed for about 48 hrs at 4°C. After dialysis, the sample was submitted to an electrophoretic analysis.

Unfertilized eggs (as a control), fertilized and activated (by water) eggs were respectively submitted to the electrophoresis. Fertilized eggs used as the material included the eggs 2 minutes after the fertilization and those 15 minutes after. Activated eggs included those 30 seconds, 2 minutes and 15 minutes in contact with water respectively. The above stated time was determined from the loss of fertilizability at the time of activation. That is to say, the fertilization rate of the egg decreased by about 50% in contact with water for 30 seconds and then the egg lost its fertilizability absolutely by 2 minutes immersion in water.

Electrophoretic analysis was carried out with HT-B type Tiselius Apparatus (Hitachi Seisakusho Company) with the size of cell 2 x 15 x 50 mm. All of the experiments were carried out in $Na_2HPO_4$–$KH_2PO_4$ buffer (pH 7.0), with ionic strength approximately 0.3.

## Experimental Results and Discussion

The electrophoretic diagram of the whole yolk of unfertilized egg showed the following components (Fig. 1. A). In the central part of the diagram three components (No. 1, No. 2 and No. 3) are present, components No. 1 and No. 2 did not disappear for 15 minutes after fertilization, but component No. 3 disappeared 2 minutes later (Fig. 1. E and F). On the other hand, in case of activated eggs, component No. 1 disappeared 30 seconds later, while components No. 2 and No. 3 did not disappear for 15 minutes after activation (Fig. 1. B, C and D). Component No. 4 disappeared 2 minutes after fertilization. In the front (fast) part of the diagram the fastest component was present; component No. 6 reacted more rapidly faster as the result of activation and also of fertilization having disappeared 2 minutes later in both cases. In activated eggs, the opposite charged component appeared 30 seconds later and disappeared 2 minutes later (Fig. 1. B, C and D), while this component was not visible in fertilized eggs. Monroy [2] has reoprted that this opposite charged component is discovered neither in unfertilized nor fertilized eggs of sea urchin. In front of component No. 3 a faster moving component was

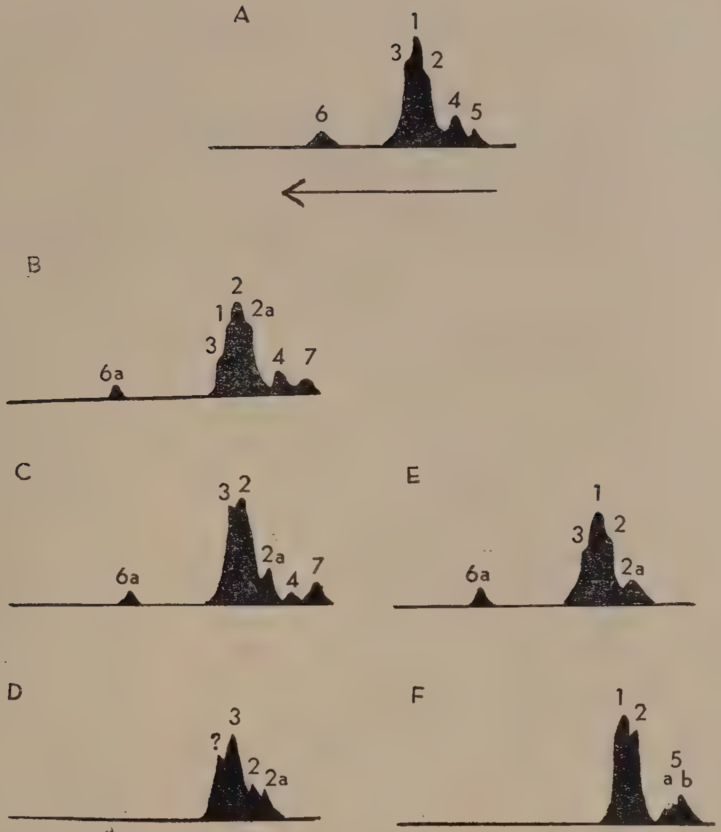



Fig. 1. Electrophoretic diagrams of whole yolk. A) unfertilized eggs ; B) eggs 30 seconds after activation ; C) eggs 2 minutes after activation ; D) eggs 15 minutes after activation ; E) eggs 2 minutes after fertilization ; F) eggs 15 minutes after fertilization.

Descending limb. pH=7.0 ; Potential grade, A, B, D, E and F=7.3 volt/cm C=7.4 volt/cm. Period of electrophoresis, A, B, C, E and F=3605 sec. D=3606 sec. ←—=Direction of migration.
(Representations of all the components have been prepared by tracing the original photographs.)

present (Fig. 1. D ?). This component must be a new one. Component No. 2a is also considered to be new. This component may be derived from component No. 2. Component No. 2a did not disappear in the activating process ; but in fertilized egg, this component had already disappeared 2 minutes later. Furthermore, component No. 5b appeared 15 minutes after fertilization (Fig. 1. F). This component is also to be considered new as it shows a different mobility as compared with the other

ones (Table 1). This component may be derived from component No. 5. From the above, similar reactions characteristic both to activation and fertilization are as follows;

1. The egg diminished the number of components 2 minutes after activation or fertilization as a result thereof. In this time, activated eggs lose the fertilizability absolutely. This fact shows that some great changes occurred in the egg 2 minutes after fertilization (or activation).
2. The fastest component No. 6a may be derived from component No. 6 of unfertilized egg. This component becomes faster and disappeared 2 minutes later. Component No. 6a probably plays an important part in activating process because the egg lost its fertilizability in 2 minutes when in contact with water.
3. The new component No. 2a appeared as the result of activation and fertilization.

Table 1. Mobility (u. $10^{-5}$ $cm^2$/volt. sec.) and ratio. Whole yolk.
Descending limb.

| | | Components | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ? | 1 | 2 | 2a | 3 | 4 | 5 | 6 | 6a | 7 |
| Unfertilized egg (Control) | Ratio (%) | | 28.5 | 13.5 | | 23.7 | 14.4 | 9.1 | 13.5 | | |
| | Mobility | | 3.9 | 3.1 | | 4.3 | 1.3 | 0.9 | 8.9 | | |
| 30 sec after activation | Ratio (%) | | 11.0 | 27.7 | 26.5 | 10.3 | 11.6 | | | 6.4 | 6.5 |
| | Mobility | | 3.9 | 3.4 | 2.7 | 4.3 | 1.3 | | | 10.3 | -0.5 |
| 2 min after activation | Ratio (%) | | | 47.1 | 7.8 | 31.3 | 3.1 | | | 3.8 | 6.9 |
| | Mobility | | | 3.2 | 2.4 | 4.3 | 1.3 | | | 10.3 | -0.5 |
| 15 min after activation | Ratio (%) | 24.1 | | 14.7 | 13.8 | 47.4 | | | | | |
| | Mobility | 5.1 | | 3.2 | 2.4 | 4.3 | | | | | |
| 2 min after fertilization | Ratio (%) | | 39.1 | 22.7 | 9.1 | 21.8 | | | | 7.3 | |
| | Mobility | | 4.0 | 3.4 | 2.4 | 4.4 | | | | 10.8 | |
| 15 min after fertilization | Ratio (%) | | 42.9 | 37.6 | | | | a 8.1 / b 11.4 | | | |
| | Mobility | | 3.7 | 3.1 | | | | a 0.9 / b 0.6 | | | |

Essential different reactions between activation and fertilization are as follows;

1. All components of fertilized eggs migrate anodically in pH 7.0 while no component makes cathodic migration. On the contrary, in activated egg the opposite charged component appears.
2. In activated eggs, the new component No. 2a does not disappear in 15 minutes, and then another new component appears (Fig. 1. D ?). On the other hand, in fertilized eggs, component No. 2a disappears 2 minutes after fertilization, and

then a new component different from that of the activated egg appears (Fig. 1. F. 5b).

As stated above, although the electrophoretic diagram in fertilized egg is similar on the whole to that of the activated egg at the same lapse of time, each component shows different mobility. Therefore, the eggs submitted to the two treatments have each shown a different quality of protein level as a result of activation or fertilization respectively. It is hard to say what kind of reaction exists in changes of protein level soon after activation and fertilization. But it seems those changes in eggs treated in both ways may show a week degree of denaturation. The comparison of the two shows that the activating reaction is stronger in the degree of denaturation than the fertilization reaction is. But the denaturation in activated eggs recovers to some extent within a short times, because the opposite charged component disappears in 2 minutes after activation. In this time, the egg has already lost its fertilizability altogether. Therefore, this fact shows that there exists a correlation between the appearance of the opposite charged component and fertilizability of the egg. The first demonstrable change at the time of fertilization or activation may be the occurrence of denaturation of egg. In fact, Rapkine[5] recognized the increase of -SH groups at the time of fertilization in sea urchin egg (*Paracentrotus lividus*). However, according to Mirsky,[1] it is not accompanied by a liberation of the -SH groups, being more like the related phenomenon of the reversible denaturation of myosin during muscular contraction.

On the other hand since activating reactions are fast and of cortical changes, these protein levels at the time of activation or fertilization may be derived from the changes of the cortical lipid of the egg.

### Summary


Investigation has been made of the difference between activated and fertilized eggs in the pond smelt (*Hypomesus olidus* (*PALLAS*)) electrophoretically.

1. The analysis of the whole yolk of activated eggs shows an opposite charged component which appears soon after activation and disappears 2 minutes later. On the contrary, in fertilized egg, this opposite charged component can not be discovered for 15 minutes after fertilization.
2. The great electrophoretic changes, both in activated and fertilized eggs, occur 2 minutes later.


### References


1. Mirsky, A. E. (1936). Protein coagulation as a result of fertilization. *Science* **84** (2180), 333.
2. Monroy, A. (1950). A preliminary electrophoretic analysis of protein and protein fractions in sea urchin egg and their changes on fertilization. *Exptl. Cell Res.* **1** (1), 92.
3. Yamamoto, T. (1944). Physiological studies on fertilization and activation of fish egg. I. Response of the cortical layer of the egg of *Oryzias latipes* to insemination and artificial stimulation.

*Anno. Zool. Jap.* **22**, 109.

4. Yamamoto, T. (1948). The cortical change at the time of fertilization and activation in the eggs of gold fish and pond smelt. *Zool. Mag.* **58** (3, 4; 5), 65. (in Japanese).
5. Rapkine, M. L. (1930). Sur les processus chimiques au cours de la division cellulaire. *Compt. Rend. Acad. Sci.* **191**, 871.

# DAILY CHANGE OF VERTICAL DISTRIBUTION OF PLANKTON ANIMALS NEAR WESTERN ENTRANCE TO THE TSUGARU STRAIT, NORTHERN JAPAN

Sigeru MOTODA and Masateru ANRAKU
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

Two net hauls for plankton sampling, one in the daylight and another one at darknight, were carried out at a station, 41°34′N, 139°54′E, near western entrance to the Tsugaru Strait in northern Japan on 20th and 21st October, 1953.

For sampling the plankton by vertical haul from the strata of 450 m–300 m, 300 m–150 m and 150 m–0 m separately, a specially disigned iron cap (fig. 1) was used for closing the net. It is a cone-shaped covering, made of iron plate of 2 mm thickness, 45 cm in diameter at the lower edge, 47 cm long along the side, and 6.1 kg in total weight. At the top there is a cylindrical neck (fig. 2,a), 10 cm in height and 4.5 cm in diameter, in the axis of which a hole, 2.7 cm in diameter, is pierced. A rod (fig. 2,b) which is divisible longitudinally to two halves may be screwed into the above hole of the neck, so as to leave a narrow hole, 7 mm in diameter, which allows the wire to run. There are three large openings around the upper part of the side of the cap, each being closed with a cover (fig. 1).



Fig. 1. Iron cap and plankton net hanging on the deck

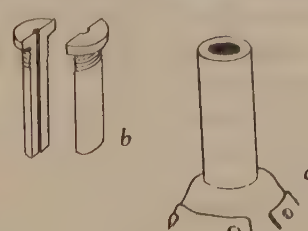



Fig. 2. Neck part of the cap (a) and inner rod (b)

The cap goes down into the depths sliding on the wire as fast as about 50 cm per second, and completely covers the mouth of the net when it rests on the net, no more sampling being made.

The plankton net used is 35 cm in mouth diameter, 130 cm long at the side, and made of bolting silk, GG 58, i. e., 56.5 meshes to a linear inch. Although the cap is rather clumsy and there is much resistance to the current of water, it is highly reliable for closing the net at desired depth.

After a preliminary experiment with the iron cap of original pattern was made, this pattern was somewhat improved. In the second type cap (fig. 3) lower edge is



Fig. 3. Improved type of cap

elongated by 6 cm, becoming 50 cm in diameter to cover the net of 45 cm in mouth diameter. Such net has been used as a standard net, so-called "Marutoku-net", in the sardine research of the Fishery Agency. Together with this enlargement, the edge was fringed with a brim bending outward as long as 3 cm. By this improvement the cap will be easily slid along the bridle of the net, and will successfully cover the mouth of the net. This type of cap weighs as heavy as 8.4 kg, and the sinking velocity is about 50 cm per second.

The plankton materials which had been captured in the net during the vertical haul often outflows from the mouth of the net at the moment of closing by ordinary Nansen's closing method (Barnes, 1954), but this may be eliminated by use of the iron cap. Moreover, the net used in the present investigation is equipped inside with an inner cone of bolting silk of which the terminal opening is 7 cm in diameter. This prevents the agile animals to swim away from inside of the net.

The results of observation are given in table 2 in which the total number of various species occurring in a haul at different strata is calculated. The surface temperature was as high as 19.5°C, but it was greatly decreased at 100 metres, as low as 5.80°C, being gradually decreased with depth below that (table 1).

Table 1. Vertical distribution of temperature

| Depth (m) | Temperature (°C) |
|---|---|
| 0 | 19.50 |
| 100 | 5.80 |
| 200 | 1.55 |
| 300 | 0.92 |
| 400 | 0.46 |

Comments on the distribution figure will be made on the species which have occurred in considerable number. The species occurring exclusively or in majority in the strata shallower than 150 metres in daytime as well as at night are considered to be those which dislike the deep cold water. *Calanus helgolandicus*, *C. tenuicornis*, *C. darwinii* (though one individual was collected from the deep layer at night), *Candacia* sp., *Oncaea* spp. and *Corycaeus* spp. are considered to prefer warm water. Microcalanoid copepods, such as *Paracalanus*, *Clausocalanus* and *Scolecithricella*, as well as a majority of the chaetognaths and appendicularians, were also abundantly distributed in the shallow layer, probably due to the preference for shallow lighted water. However, among the chaetognaths, *Sagitta elegans*, which has been known as a cold

Table 2. Number of individuals of various species occurring at different strata in daytime and at darknight

| Day or night | Day (10:00—10:40 a. m.) | | | Night (0:00—0:40 a. m.) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Hauling layer | 150-0m | 300-150m | 400-350m | 150-0m | 300-150m | 400-350m |
| *Calanus helgolandicus* | 8 | 2 | | 15 | 2 | |
| *C. cristatus* | | | 7 | | 2 | 12 |
| *C. plumchrus* | 6 | 24 | 18 | 2 | 24 | 11 |
| *C. tenuicornis* | 12 | 2 | | 9 | | |
| *C. minor* | 1 | | | | | |
| *C. darwinii* | 4 | | | | | 1 |
| *Eucalanus* spp. | 2 | | 2 | | | 3 |
| *Euchaeta* spp. | 13 | 2 | 20 | 11 | 9 | 6 |
| *Scolecithricella* spp. | 2 | | | 2 | | |
| *Metridia lucens* | 27 | 4 | 195 | 49 | 15 | 141 |
| *Bradyidius armatus* | | | | 1 | | |
| *Gaidius* spp. | | | 4 | | 2 | 2 |
| *Gaetanus* sp. | | | | 1 | | |
| *Candacia* sp. | 4 | | | 4 | | |
| *Paracalanus & Clausocalanus* | 294 | 37 | 20 | 510 | 50 | 51 |
| *Oithona* spp. | 81 | 21 | 17 | 54 | 16 | 41 |
| *Temora* sp. | 1 | | | | | |
| *Lucicutia* sp. | | 1 | | | | |
| *Clytemnestra* sp. | 9 | | | 2 | 2 | |
| *Setella gracilis* | 1 | | 1 | 3 | 2 | |
| *Oncaea* spp. | 101 | 10 | 33 | 145 | 12 | 5 |
| *Corycaeus* spp. | 28 | 3 | | 8 | 2 | |
| *Themisto* sp. | 6 | 3 | 8 | 39 | 14 | 3 |
| *Primno* sp. | | | 1 | | 3 | 2 |
| *Euphausia pacifica* | | | 3 | 2 | | |
| *Thysanoessa* sp. | | | | | 2 | 2 |
| *Conchoecia elegans* | | 2 | 141 | 7 | 15 | 240 |
| *Sagitta* spp. | 25 | 7 | 10 | 20 | 2 | 5 |
| *Oikopleura* spp. | 18 | 3 | | 19 | | |
| *Doliolum* sp. | 1 | | | 1 | | 1 |
| *Aglantha digitale* | 1 | 2 | 45 | | 4 | 16 |
| Polychaeta larvae | | | 1 | 1 | | |
| Total | 645 | 123 | 526 | 905 | 178 | 542 |

water form, was mainly collected from the deeper layer.

Some species were abundantly collected from the strata below 150 metres. They must have been distributed there by their preference for cold water or their characteristic abyssal nature. *Calanus cristatus*, *C. plumchrus*, *Metridia lucens*, *Gaidius* sp., *Primno* sp., *Conchoecia elegans* and *Aglantha digitale* are the examples of such forms. Thus, attention is drawn to the significance of the preventive effect of large temperature gradient upon vertical migration of a majority of the plankton animals.

It was indicated that in *Calanus cristatus* and *Metridia lucens* the larger individuals were distributed in the deeper layer, while smaller ones in the shallow layer (table 3). This tendency was not perceived in *Calanus plumchrus*. In *Calanus cristatus* and *C. plumchrus* the individuals which were found in the shallow layer were almost those of immature forms of the last stage of copepodite, the mature individuals in adult stage being found only in the deeper layer mingled with immature forms. However, the body length was not so variable as to be distinguishable between the individuals of the above two stages.

Table 3. Mean body length of three species of copepods from different strata (mm)

| Hauling layer | 150m—0m | | 300m—0m | | 450m—0m | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Day or night | Day | Night | Day | Night | Day | Night |
| *Calanus cristatus* | — | — | 6.71 | 5.89 | 9.31 | 9.31 |
| *Calanus plumchrus* | 4.35 | 2.67 | 3.50 | 3.21 | 4.04 | 3.88 |
| *Metridia lucens* | 1.92 | 2.37 | 2.09 | 2.19 | 3.26 | 3.02 |

A few other species were apparently observed to make daily vertical movement. *Themisto* sp. (closely allied form to *T. abyssorum*) appeared abundantly in the layer of 150 m—0 m at night, while few in daytime, showing the upward movement at night. In yonng *Euphausia pacifica* a few individuals have occurred in 450 m—300 m in daytime, but in 150 m—0 m depth at night. They seemed to migrate up and down diurnally passing through the strata of different temperatures.

The number of *Conchoecia elegans* in 450 m—300 m was greatly increased at night comparing with in daytime, the number in the layers shallower than 300 metres being also considerably increased at night. There is evidence of vertical migration in the last species too, but the migration takes place mainly within the deep water.

In the routine oceanographic cruise the plankton hauls are usually carried on notwithstanding whether it is day or night. In order to eliminate the difference in occurrence of species as well as distribution number of plankton by day and night, the haul must be made from certain depth. In table 4 is shown the number of

Table 4. Total number of plankton obtained by three hauls from different depths in daytime and at darknight

| Hauling layer | | 150 m—0 m | | 300 m—0 m | | 450 m—0 m | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Day or night | | Day | Night | Day | Night | Day | Night |
| Total animal plankton | Number of individuals | 645 | 905 | 768 | 1083 | 1294 | 1625 |
| | Ratio of night to day | 100 | 140 | 100 | 141 | 100 | 126 |
| Animal plankton excluding *Themisto*, *Euphausia* and *Conchoecia* | Number of individuals | 639 | 857 | 757 | 1006 | 1131 | 1305 |
| | Ratio of night to day | 100 | 134 | 100 | 133 | 100 | 115 |

plankton occurring in the strata from different depths to the surface in daytime and at night. From this table it is learned that the number of total plankton sampled in daytime and at night varies remarkably with each other in the 150 m—0 m and 300 m—0 m hauls, and that the number varies considerably too in the 450 m—0 m haul. Even though the number of *Themisto*, *Euphausia* and *Conchoecia* which make conspicuous diurnal migration is excluded, the number of plankton sampled by the 150 m—0 m and 300 m—0 m hauls at night is increased by over 30 per cent of the number sampled in daytime.

The authors are indebted to Captain T. Fujii and his crew of the T. S. Hokusei Maru of the Faculty of Fisheries, Hokkaido University, for making facilities available for carrying out the sampling, and to Mr. N. Ogawa for help during the work at sea. Financial aid granted from the Fishery Agency for the present investigation is gratefully acknowledged.

## Summary

(1) A newly devised iron cap for closing the net in vertical haul is described.

(2) The species preferring warm water stay in large number in the upper warm water all day long, and those preferring cold water in the deep cold water, both having not displayed any remarkable vertical migration.

(3) *Themisto* sp. and *Euphausia pacifica* made a distinct vertical migration passing through the large temperature gradient.

(4) *Conchoecia elegans* makes migration too, but the migration is limited within the deep water.

(5) Total number of plankton sampled by vertical haul from the depth of 450 m varies considerably by day and night.

## Reference

Barnes, H. (1949). A statistical study of the variation in vertical plankton hauls, with special reference to the loss of the catch with divided hauls. *Jour. Mar. Biol. Ass.* **28** (2), 429—446.

# STUDIES ON MECHANISMS OF MANUFACTURING ALGIN

## Part V. Amended Theory on Mechanism of Manufacturing Algin*

Noboru SUZUKI

*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

Algin was first extracted by Stanford[1] from bladder wrack with sodium carbonate. His process may be described as follows: Drift-weed is macerated, with or without heating, for twenty-four hours with one tenth of its weight of sodium carbonate. At the end of this period, the plants are completely disintegrated and a very viscous, semi gelatinous mass is obtained. The alginic acid is precipitated from the filtrate by addition of either sulfuric or hydrochloric acid.

Takahashi[2] reported a new method: he extracted algin with oxalate the same as in the case of extracting pectin because alginic acid fairly resembles pectic acid regarding chemical configuration. It was explained that insoluble alginates such as calcium or aluminium alginate in brown algae were dissolved into soluble alginate by the following double decomposition (1):

$$\text{Ca-Alginate} + \text{M-Oxalate} = \text{Ca-Oxalate} + \text{M-Alginate} \quad \cdots\cdots (1)$$

where M presents alkali metals or ammonium radical.

He did not accomplish further theoretical investigation. There are available only a few theoretical works regarding the procedure for manufacturing algin, although some improvements of manufacturing method have been reported.

It is usual for algae to be pretreated with water, hydrochloric acid or other solutions for the purpose of extracting potassium salts, iodine, mannit and pigment or other impurities and for algae to be made easy to macerate by treatment with sodium carbonate; however little consideration has been given to converting algin into certain definite form. A report was made in a previous paper[3] on the significance of converting algin into some definite forms e.g., free alginic acid or calcium alginate, pretreating algae with some solutions.

The process of manufacturing algin from brown algae and the theory thereof were reported under the condition of converting algin into free alginic acid and calcium alginate pretreating the plants with hydrochloric acid or calcium chloride solution, in previous papers.[4)-6)] However it is now necessary to amend the theoretical discussion of the mechanism of manufacturing as is described in this paper.

On some modifications in the theoretical discussion or the process of manufacturing algin and the correction of ionization constant of alginic acid, this paper makes a report.

* Short notes on this work have been reported in this bulletin, vol. 4, p. 198 (1953).

In a previous paper,[4] it was considered that alginic acid was a sort of fairly strong acids and, therefore, its dissolution into soluble alginate was accomplished through a double decomposition between alginic acid and the alkali salt of weaker acd. But it is proved in recent investigation that cation exchange between alginic acid and even the salt of strong acid viz., NaCl or KCl occurs, and the ionization constant of alginic acid reported in the previous paper[4] has to be corrected the order of $10^{-4}$ to $10^{-5}$ for the saturated alginic acid solution. It is necessary to amend the theory of the manufacturing mechanism of algin; however, there is no amendment needed respecting the previously reported methods of manufacturing algin from brown algae.[4][5]

Amended theory of manufacturing algin from brown algae is as follows: The cation exchange between electrolytes and alginic acid or insoluble alginates should occur partly or almost completly in any case, and the dissolution of algin proceeds as a peculiar case of the cation exchange reaction.

The expenses of this work have been in part defrayed by a Grant in Aid for Fundamental Scientific Research. The author is indebted to Mr. Miki Oguro for his assistance in carrying out the experiments.

### On the Dissociation of Saturated Alginic Acid Solution

The dissociation degree of alginic acid was determined for the first time by Pauli and Sternbach.[7] Their obtained dissociation degrees of alginic acid were 0.169 to 0.270 in the concentrations of alginic acid 59.7 to $1.6\times10^{-3}$ mol. Seiyama[8] determined the pK values and dissociation degrees of alginic acid. His obtained pK values were 2.87 to 4.60, dissociation degres were 0.285 to 0.316, respectively in the concentration of alginic acid, 11.88 to $0.19\times10^{-3}$ mol. He calculated the above mentioned values from the values of pH; however he calculated the values from the electric conductivities too and the values obtained by both methods were fairly agreed. The author determined the dissociation degree, pH, ionization constant and pK of the saturated solution of alginic acid prepared by his own method[6] and well purified by the ordinary process.

The concentrations of the solutions were determined through the titration curves with 0.01 n NaOH solution. The dissociation degrees were calculated from the values of hydrogen ion concentrations obtained from pH values and the above obtained dissolved concentrations of alginic acid. The pH values were measured by glass electrode pH meter made by MITAMURA SHOTEN. The ionization constants were calculated from pH values as alginic acid consisting of mono mono-valent mannuronic acid, and the values of pK were obtained from ionization constants.

The above mentioned values obtained from saturated alginic acid solutions are shown in Table 1, where, every solution is prepared being saturated 0.2 g of alginic acid in 100 cc of redistilled water, A represents the solution allowed to stand

for 20 hours at 25°C after boiling for 30 minutes, **B** represents the solution allowed to stand for an hour at 25°C after boiling for three hours.

Table 1

| Solution | Concentration $10^{3}$ mol | 2 | pH | K | pK |
|---|---|---|---|---|---|
| **A** | 2.776 | 0.102 | 3.55 | $3.55\times10^{-5}$ | 4.45 |
| **B** | 16.790 | 0.095 | 2·80 | $1.64\times10^{-4}$ | 3.78 |

The titration curve of the **A** solution is shown in Fig. 1. As the figure shows, the titration curve of alginic acid solution is very characteristic. This fact would be dependent upon the colloidal effect of high molecular electrolyte or upon the existence of carboxylic radicals having various dissociations although that point should be investigated further. For the above mentioned reason, the ionization constants described in Table 1 mean only the average ionization constants of saturated alginic acid solutions. At all events, it may be said that alginic acid is a fairly weak acid. Alginic acid is dissolved to a fair extent in water, that is to say, about 0.3 g is dissolved in 100 cc of water with boiling for three hours, and this concentrated solution is not transparent but a protein-solution-like opalesque solution.

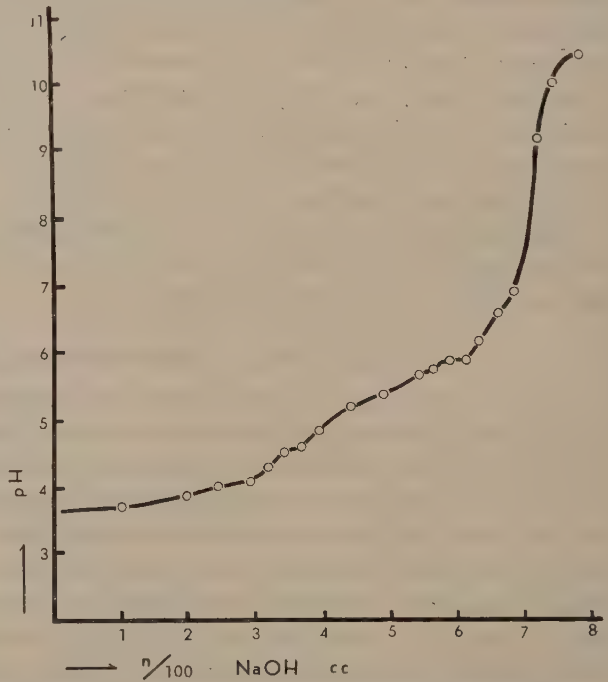



Fig. 1. The titration curve of alginic acid solution saturated by boiling for 30 minutes and allowed to stand for 20 hours

**Cation Exchange Reaction of Alginic Acid**

Alginic acid is a rather weak acid as described, however sometimes it behaves like a strong acid as follows: Alginic acid dissolves into soluble alginate reacting with many sorts of salts through double decomposition as described in a previous paper,[4] alginic acid liberates iodine from the mixed solution of potassium iodide

and sodium nitrite as a strong acid does and also it liberates sulfur from the solution of sodium thiosulfate, all of which should be explained that the cation exchange between hydrogen ion of carboxylic radical of alginic acid and the cation of the salts takes place in the above-described solutions.

The corresponding acid of the salt would be produced if the cation exchange reaction would occur between alginic acid and a salt following reaction(2):

$$\text{Alg-COOH} + \text{KA} \rightleftarrows \text{Alg-COOK} + \text{HA} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (2)$$

where K represents a cation, A represents an anion.

A preliminary examination of above-mentioned theory was made as follows: Alginic acid 0.2 g and the equivalent amount of various salts were put into 100 cc of redistilled water and the changes of pH values were measured after duration of an hour, pH value without salts was 4.5. Several results are shown as in Table 2.

Table 2

| Salt | pH | Remarks |
|---|---|---|
| $CH_3COONa$ | 4.2 | Alginic acid is dissolved entirely within half an hour. |
| $Na_2HPO_4$* | 4.4 | Alginic acid is dispersed into small particles and partly dissoved. |
| $C_4H_4O_4Na_2$* | 4.1 | Same as above. |
| NaF | 4.0 | Almost insoluble. |
| HCOONa* | 4.1 | Alginic acid is dispersed into small particles and partly dissoved. |
| $C_4H_4O_6KNa$ | 4.0 | Alginic acid is dissolved entirely within half an hour. |
| $K_2CrO_4$* | 4.4 | Alginic acid is dispersed into small particles and slightly dissolved. |
| $C_2O_4Na_2$* | 3.8 | Alginic acid is dispersed into very small particles and partly dissolved. |
| $NaASO_2$ | 4.4 | Almost dissolved. |
| $Na_2B_4O_7$ | 4.8 | Alginic acid is dissolved entirely within half an hour. |
| NaCl | 3.3 | Apparently insoluble. |
| KCl | 3.4 | Apparently insoluble. |

The mixed solutions signed,* in the table, do not form true transparent colloidal solutions because they retain small particles of algin, however, they precipitate fibrous alginic acid gel by adding hydrochloric acid as the case of usual soluble alginate. It is considered that if the cation exchange would proceed and if the reaction is almost or partly reversible the dissolution would not occur, however, alginic acid or algin replaced its cation would be dispersed into small particles. That is to say, the ion exchange reaction between hydrogen ion of carboxylic radical of alginic acid and cation of the salt proceeds until equilibrium is reached.

On the cation exchange reaction concerned with calcium alginate, one of the commonest insoluble alginates, a report has previously been made.[6]

It was also previously reported how the dissolution of alginic acid by the salts of weak acid assumes the reaction of simple double-decomposition.[4] The facts described in that paper are well-established, however, they may be explained by the theory of cation exchange.

The cation exchange equilibrium between alginic acid and NaCl or KCl was

studied as follows. The cation exchange equilibriums may be written respectively following formulas (3) and (4).

$$\text{Alg-COOH} + \text{NaCl} \rightleftarrows \text{Alg-COONa} + \text{HCl} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (3)$$

$$\text{Alg-COOH} + \text{KCl} \rightleftarrows \text{Alg-COOK} + \text{HCl} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (4)$$

If above mentioned cation exchange reactions occur, hydrochloric acid ought to be produced. Produced hydrochloric acid is determined by neutralization with sodium hydroxide or by titration of Cl ion. Carefully purified alginic acid powder, prepared after the author's method, 0.2 g, and the equivalent amount of NaCl or KCl was put into conical flask and 20 to 80 cc of redistilled water was added. After standing for 20 hours at 20°C, the cation exchange equilibrium was determined following two methods: A) The equilibrium mixtures themselves were distilled by steam till distillate reached 400 cc, and distillates were titrated with 1/40 n NaOH solution to determine acidity and on the other hand Cl ion in distillates was determined by titrating with 1/100 n $AgNO_3$ solution after MOHR's usual method. B) After removal of matter left after filtration, acidity and Cl ion of the filtrate were determined respectively in same way as above.

The purpose of these two experiments was as follows: Experiment A was done to learn whether the titrable acid was truly hydrochloric acid or not. Experiment B was done to calculate the amount of absorbed electrolyte. The absorbed electrolyte was then calculated

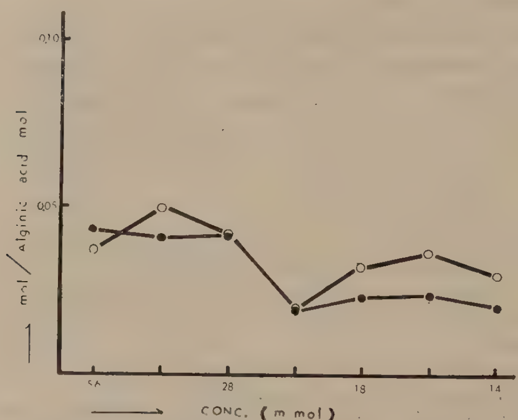



Fig. 2. Produced acid by steam distillation after method A using NaCl

○—○ ; calculated from neutralization

●—● ; calculated from the amount of Cl ion

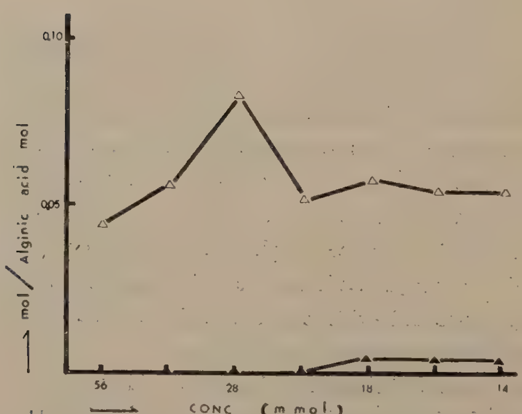



Fig. 3. The amounts of the cation exchange and the absorption of NaCl

△—△ ; the amount of the cation exchange

▲—▲ ; the absorption of NaCl

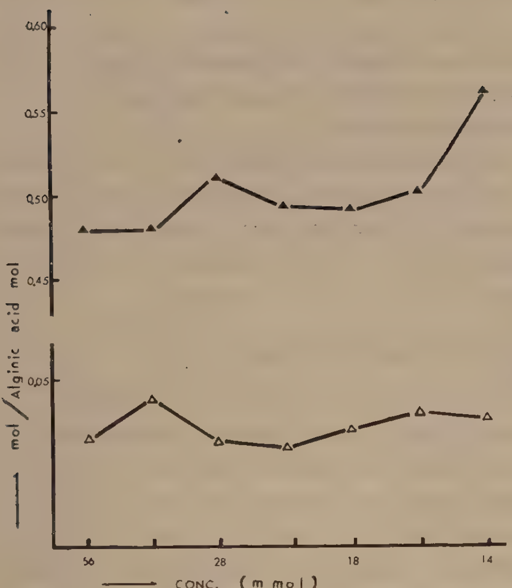



Fig. 4. The amount of the cation exchange and absorption of KCl

△—△ ; the amount of the cation exchange

▲—▲ ; the absorption of KCl

by subtracting titrated Cl ion of filtrate from total added Cl ion. The results are illustrated in Figs. 2, 3 and 4.

It may be said that produced acid is hydrochloric acid on the agreement of titrated acidity with Cl ion content of distillate as shown in Fig. 2, however the amount of distilled acid is less than that obtained from filtrate directly as shown in Fig. 3. Under the experimental condition, H ion of alginic acid is exchanged with Na or K of NaCl or KCl even in small amount. That is to say, in NaCl solution about 0.45 to 0.08 mol of H ion of alginic acid replaces for 1 mol of alginic acid and in KCl solution about 0.03 to 0.04 mol by cation exchange respectively. The absorbed amount of electrolyte differs in the two cases, NaCl and KCl, as shown in Figs. 3 and 4. In NaCl solution, alginic acid scarcely absorbs the salt, although in KCl solution it does to the amount of about 0.48 to 0.55 mol for 1 mol of the acid.

It is evident that the cation exchange between alginic acid or its insoluble salts and electrolyte does occur. The amended theory regarding the mechanism of manufacturing algin may be described as follows.

### Theoretical Discussion on the Mechanism of the Manufacturing Algin

The dissolution of alginic acid or insoluble alginates is considered as special cases of the cation exchange reaction between algin and electrolyte.

The cation exchange between free alginic acid and electrolytes occurs under the equilibrium of formula (2) as above mentioned.

As alkali metal-, ammonium- or magnesium-alginates are soluble, if K, written as M hereafter, is one of these cations the reaction would proceed to dissolve alginic acid into soluble M-alginate when the reactions are completely or nearly irreversible. The electrolytes, MA, which make the reaction (2) completly or nearly

irreversible are those having anion $OH^-$ or fairly weak acid radical as described in previous paper.[4]

The cation exchange between insoluble alginates and electrolytes occurs under the equilibrium of following reaction which is based on the same principle:

$$\text{Alg-COOX} + \text{K'A'} \rightleftarrows \text{Alg-COOK'} + \text{XA'} \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (5)$$

where Alg-COOX presents insoluble alginate, K' and A' present respectively cation and anion. If K' is one of M and the ion exchange reaction is completely or nearly irreversible, the insoluble alginate is dissolved into soluble M-Alginate. These electrolytes are shown in previous paper.[3] The recommendable methods of manufacturing algin are described later.

### The Methods of Manufacturing Algin

It is desirable to convert algin in brown algae into definite form manufacturing algin as above described, because algin in brown algae exists in various types of combination, such as insoluble salts and other complex compounds. It is a practically useful method to pretreat algae with hydrochloric acid or calcium chloride solution converting algin respectively into free alginic acid or calcium alginate. The outline of the recommendable manufacturing methods employing thus pretreated algae are described again although these methods were previously reported in Japanese.[4)6]

*A) The manufacturing process pretreating with diluted hydrochloric acid*

Alginic acid is dissolved into soluble alginate by hydroxide or carbonate of alkali metals, ammonium or magnesium and a number of salts of fairly weak acid as described in Table 3 because the cation exchange equilibrium between these electrolytes and free alginic acid are completely or nearly irreversible. A new recommendable process of manufacturing algin has been found as follows: Alginic acid is dissolved into Na-alginate by $Na_2SO_3$ because produced $SO_2$ escapes out of the system and the equilibrium of the reaction proceeds completely following reaction (6).

Table 3

| |
|---|
| $M_2SO_3$; $MHSO_3$; $M_2S_2O_3$; Rochelle salt; |
| $CH_3COOM$; $M_2CO_3$; $MHCO_3$; $MAsO_2$; |
| $M_2S_{2+x}$; $MBO_3$; $M_2B_4O_7$; MCN etc. |

$$2\text{Alg-COOH} + Na_2SO_3 = 2\text{Na-Alginate} + H_2O + SO_2 \quad \cdots\cdots\cdots\cdots (6)$$

The reaction proceeds keeping the acid, and the filtration is very easily done because of decreasing viscosity of macerated solution. Furthermore, because of the formation of $SO_2$, the solution is prevented from decomposition by microorganism and algin is bleached.

Practical application of manufacturing algin from brown algae with $Na_2SO_3$ is briefly described as follows.

In order to convert various types of algin in brown algae into free alginic acid, the algae are treated with 0.1 n HCl solution for 15–30 minutes at 50–60°C. After

removal of acid solution, 15% of $Na_2SO_3$ by weight of dried algae and 30 times that weight of water are added to remaining algae and heated for an hour at 60–70°C; then the bodies of the algae are completely disintegrated.

*B) The manufacturing process by pretreating with $CaCl_2$ solution*

Calcium alginate is dissolved into solube alginate when the following reaction (7) is completely or nearly irreversible.

$$\text{Ca-Alginate} + \text{MA} \rightleftarrows \text{M-Alginate} + \text{CaA} \quad \cdots\cdots\cdots (7)$$

Several examples of these electrolytes are shown as in Table 4. A new recommendable process pretreating algae with $CaCl_2$ solution is described as follows: Brown algae are treated with boiling water for 15–30 minutes to swell the plants and to remove soluble matter and other impurities. After removal of water, the plants are treated with 0.5% $CaCl_2$ or saturated $Ca(OH)_2$ solution for 15–30 minutes at 80–100°C to convert algin in brown algae into Ca-alginate and to fix the pigment of the cortex, making it insoluble. Rejecting the extract the plants are treated with 0.5% NaCl solution for 30–60 minutes at 80–100°C. Within this period, Ca-alginate swells and Na-alginate is partly produced by cation exchange reaction, while the pigment is left in the plants. Without drawing off the extract, plants are macerated with $Na_2CO_3$ in the quantity of 10% weight of dried algae for 10–20 minutes with gentle stirring. Allowing to stand for several hours, produced sodium alginate is dissolved into solution although the pigment is left in the epidermis without dissolution. The colour of the algin thus obtained is almost white without any bleaching process and its viscosity is very high owing to the weak attack of alkali solution. The filtration of macerated algae is very easy because epidermis and other mucilages are scarcely dissolved. The author proposed to name this "SUZUKI's Method" in previous paper.

Table 4

| |
|---|
| $M_2CO_3$; $MHCO_3$; $M_2HPO_4$; $M_3PO_4$; |
| $M_2SO_3$; $(COOM)_2$; MF; M-silicate etc. |


**Summary**

1) Under several conditions, the solubilities, ionization constants, dissociation degrees, pH values and pK values of saturated alginic acid solutions are determined. It is proved from the deteminations of above mentiond values that alginic acid is a fairly weak acid.

2) The titration curve of alginic acid with sodium hydroxide is very characteristic, however, the reason of these phenomena is not cleared yet.

3) The amended theory of manufacturing algin from brown algae is described from the viewpoint of the cation exchange reaction.

4) Recommendable processes for manufacturing algin in actual are described.

## Literature


1) Stanford, E. C. C. (1883). *Chem. News* **47**, 254, 267., (1883). *J. Soc. Chem. Ind.* **3**. 218.

2) Takahashi, T. (1933). *Tokyo Kogyo-Shikenjo Hokoku* **28**, (5). (In Japanese).

3) Suzuki, N. (1953). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **3**, 243. (In Japanese with English abstract).

4) Suzuki, N. (1953). *Ibid.* **4**, 60. (In Japanese with English abstract).

5) Suzuki, N. (1953). *Ibid.* **4**, 65. (In Japanese with English abstract).

6) Suzuki, N. (1953). *Ibid.* **4**, 69. (In Japanese with English abstract).

7) Pauli, W. & Sternbach, L. (1938). *Koll. Z.* **84**, 291.

8) Seiyama, T. (1950). *J. Jap. Ind. Chem.* **52**, 157. (In Japanese).

# PRELIMINARY STUDY
# ON THE DIFFUSIVE MOVEMENTS OF SQUID POPULATION

Satoshi NISHIZAWA
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

## Synopsis

From the results of marking experiments on squid carried out by Soeda et al. in 1951, hyperbolic variations of the number of recaptured squids at a fixed fishing ground are indicated. The densities of squid population in two adjacent fishing grounds along the migration path are almost equal to each other at any time. The movements of squid shoals are considered to be *"diffusive"* and the diffusion source is located in the fishing ground where the commercial catches of squid are comparatively uniform and stable throughout the fishing season.

## Introduction

Along the southern coast of Hokkaido, there are formed several highly productive fishing grounds of squid from June to the end of the year. Among them, the fishing ground off Esan is most productive. Many marking experiments have been carried out since 1928, especially in 1950 and 1951 in the several regions including Esan fishing ground, by the members of Hokkaido Fisheries Scientific Institution. The extent of tolerable temperature for squid population is generally considered very wide, the optimum temperature being about 14° C at which the population has highest density.




Fig. 1. Sketch map around the Tsugaru Strait showing the location of Esan and others

Soeda (1950) states that the annual travelling of squid population round Japan Islands approximately coincides with that of the optimum temperature region. The extent of tolerable or optimum temperature for an individual squid or for a single shoal, however, may be different from and narrower than that of the population as a whole. The gregarious habit of squid has not hitherto been ascertained, that is, neither the theory which attributes gregariousness to a communal urge to spawn or to feed nor an ingenious

hypothesis which seeks to define a shoal as a gathering of fish all of which are of like size or of like age, can be applied with sufficient success to squid population, mainly for the lack of biological investigation. The analysis of variation of catches of marked squids, however, presents some remarkable evidence for the gregarious habit of squid, transitory or not. And from the same analysis the author has come to have some idea on the diffusive movements of squid population.

The author is much indebted to Prof. N. Inoue, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, for his painstaking guidance through this work. The author offers an expression of deep gratitude to Mr J. Soeda of Hokkaido Fisheries Scientific Institution, for kind advice. Ho also wishes to express deep thanks to Mr Y. Ota for help in calculation.

## Fluctuations of Recaptures

Marking experiments have been carried out in several regions along the southern coast of Hokkaido in 1951 by the members of Hokkaido Fisheries Scientific Institution, in which above one thousand marked individuals were liberated in eleven times. Ten out of the eleven liberations were carried out on the Esan fishing ground on Aug. 6, Sep. 8, 21, 24, Nov. 6, 14, 17, 20, 25, and Dec. 1. The marked squids were recaptured in various regions, the recaptures off Esan being greater than in other regions through these ten liberations. The variations of the number of squids recaught off Esan where they had been liberated, are shown in figures 2–4, each one of which includes the recaptured individuals liberated on the respective same day.

It is apparent from these curves that the number of recaptured squids $r$ being rather great during a few days immediately after liberation, soon decreases very rapidly and the decreasing speed $dr/dt$ also diminishes with time $t$, resulting in the nearly hyperbolic trend of variation. If one assumes the fishing effort to be constant throughout the fishing season, catches per day can be considered to be proportional to the density of the population in the fishing ground on that day. Provided that marked individuals are distributed homogeneously among the population or shoal in the fishing ground, one can safely say that the curves mentioned above indicate the variation of density of population or shoal that remains within that ground.

Some of the marked squids liberated in the Esan ground were recaught off Osatsube, 15 miles north of Esan, especially more frequently in August and September. In that season, most of the liberated squids seem to swim north and to be caught there. The daily recaptures off Osatsube are plotted on figures 2–4 with small circles together with the recaptures off Esan of the same liberation group. The tendency of the variation off Osatsube is remarkably similar to that off Esan especially in September and one may say that they coincide with each other, if the difference between the fishing efforts on the two fishing ground is taken into account.

In December when scarcely any liberated squids appear in Osatsube fishing

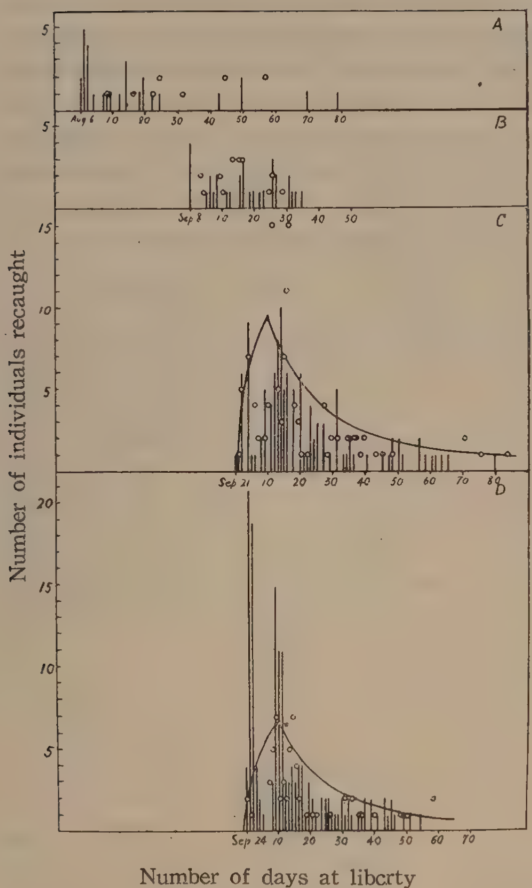



Fig. 2. Fluctuations of the numbers of recaptured squids in the Esan and Osatsube fishing grounds, the former being shown by histograms and the latter by small circles, liberated within the Esan ground on Aug. 6 (A), Sep. 3 (B), 21 (C), and 24 (D), respectively. In C and D, the theoretical curves for the variation of recaptures off Osatsube are also drawn.

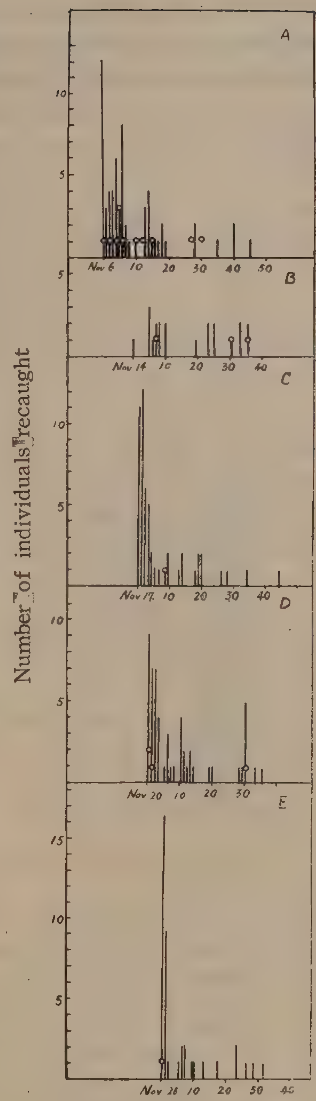



Fig. 3. Fluctuations of the numbers of recaptured squids in the Esan and Osatsube fishing grounds, the former being shown by histograms and the latter by small circles, liberated within the Esan ground on Nov. 6 (A), 14 (B), 17 (C), 20 (D), and 25 (E), respectively.

ground, and they move west along the Tsugaru Strait in one branch and go south across the Strait in the other branch, the recaptures along the coast of western Oshima, from Kikonai to Yoshioka, and recaptures off Shimokita region, from Ohata to Ikokuma, opposite Esan across the Strait, are also of hyperbolic variation respectively, being similar to that on the Esan ground at this time as shown in figure 4.

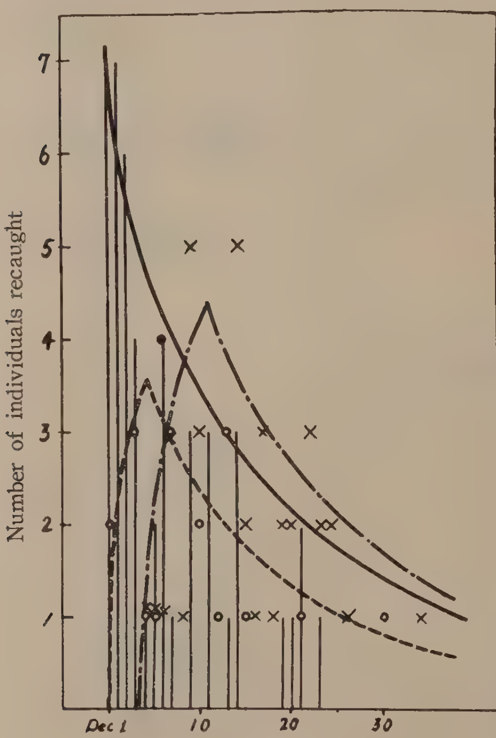



Fig. 4. Fluctuations of the numbers of recaptured squids off Esan, off Shimokita and off western Oshima liberated within the Esan ground on Dec. 1, the former being shown by histograms and the latter two by small circles and small crosses, respectively. The theoretical cuvres for the variations of recaptures are also drawn by solid line (off Esan), dotted line (off Shimokita) and chain line (off western Oshima), respectively.

### Diffusive Movements

From the preceding statement that the fluctuation of the number of recaptured squids in the Esan region coincides with that in the Osatsube region, it may be stated that every branch which migrated out of the same source has equal population density to that of the source at any time, and this suggests to one the diffusive movement of the population.

Kuroki (1953) has introduced a simple and ingeneous formula to explain the fluctuations of catches. When a shoal or a part of population begins to move from the source where $N$ individuals are crowding and swimming about not yet starting on the migratory journey as a whole group, with a constant diffusion breadth $B$ and a constant speed $V$ of the diffusion front, the population density $\rho$ at time $T$ may be expressed as

$$\rho=\frac{N}{B.v.T.}\ .$$

The number of individuals that are swimming about within the fishing ground along the migration path are

$$B.v.t_1.\rho=N.t_1/T_0+t_1$$

and

$$B.v.T_1.\rho=N.T_1/T_0+T_1+t,$$

when the diffusion front is travelling within the ground and when the front has

migrated out of the last end of it, respectively. Here, $T_0$ and $T_1$ are the duration of time which the front has needed to pass through the distance $L$ between the source and the entrance of the fishing ground and whole length $l$ of it, respectively and $t_1$ and $t$ are the lapse of time which the front has needed to reach the present position from the entrance of the fishing ground and from the last end of the fishing ground, respectively.

If the fishing coefficient for the marked individuals in the fishing ground is denoted by $f$, the number $r$ of recaptured individuals within the ground must be

$$r=f.N.t_1/T_0+t_1 \qquad (1)$$

and

$$r=f.N.T_1/T_0+T_1+t \qquad (2)$$

at respective times. Hence the maximum number of marked individuals is to be recaught at time $T_0+T_1$ when the front has just finished leaving the ground, the maximum value being $f.N.T_1/T_0+T_1$.

In the present case, the Esan region is considered to be occupied by the diffusion source of squid shoal at the day of liberation and Osatsube to be the fishing ground. In figure 2, C and D, the maximum recaptures off Osatsube occur about 10 days after the liberations and the maximum numbers are 15 and 7 individuals respectively. The length $l$ of the Osatsube fishing ground is estimated about 18 miles and the distance between the center of the Esan source and the entrance of the Osatsube

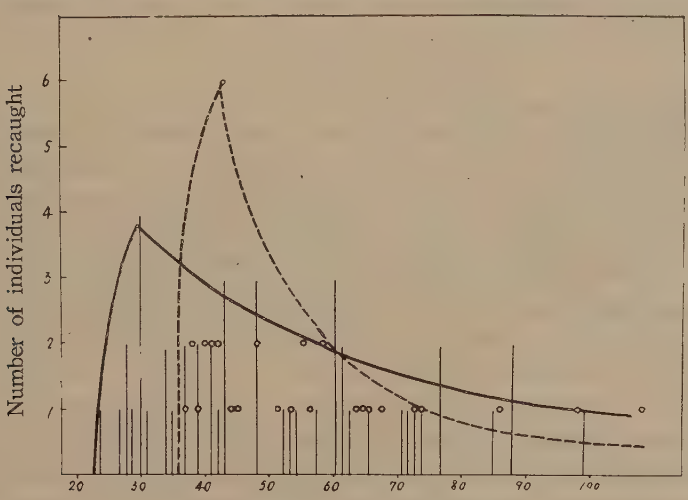



Fig. 5. Fluctuations of the numbers of recaptured squids off Esan and off Osatsube, the former being shown by histogram and the latter by small circles, liberated off Urakawa on Aug. 28. The curves drawn by solid line and dotted line indicate approximate trends of the fluctuations off Esan and off Osatsube, respectively.

ground about ten miles. Hence, $T_0$ and $T_1$ are estimated to be about 5.5 days and 10 days respectively, but the marked squids have been liberated at various points within the Esan ground in a day and they actually have not needed 5.5 days for diffusing to the entrance of the adjacent Osatsube fishing ground.

From the above data, equations (1) and (2) are plotted as shown in figure 2, C and D, and the diffusion velocity $v$ is calculated 1.8 miles per day in this area.

By the same process, equations (1) and (2) are also applied to the fluctuation of recaptures off Shimokita region where $L$ equals about 20 miles and $l$ about 10 miles, and to the fluctuation of recaptures off western Oshima where $L$ equals about 40 miles and $l$ about 25 miles, the result being shown in figure 4. The diffusion velocities in these areas are calculated to be 5 miles per day and 2 miles per day respectively.

In figure 5 the fluctuations of recaptures on the Esan and Osatsube fishing grounds in the marking experiment on squid liberated off Urakawa on Aug. 29, 1951 are shown. In this case, however, each fluctuation does not coincide and from the former fluctuation $L$ is calculated 97 miles while the actual distance between Esan and the position of liberation off Urakawa is 75 miles, and from the latter fluctuation $L$ is calculated 3 miles which is nearly the actual distance between the Esan and Osatsube fishing grounds. The speeds of the diffusion fronts are also calculated to be 1.2 miles per day from the former and 3 miles per day from the latter.

### Discussion and Conclusion

Owing to the inhomogeneity of fishing effort throughout the fishing season, on which the author has little information, and to the influence of oceanographical conditions, the variations of catches of marked squids are not exactly smoothly hyperbolic, which may be due also to the overlooking of marked individuals recaught. The general trends of catches, however, show approximately hyperbolic variations with time. In August, September and October, most of the squid groups liberated on the Esan ground diffusively moved north and consequently the recaptures off Osatsube showed hyperbolic variation similar to that within the Esan fishing ground.

Though the group liberated off Urakawa has migrated into the Esan and Osatsube fishing grounds with hyperbolic variation with time, each variation does not coincide as in the preceding cases. The diffusive movement into the Esan ground seems to have its source near Urakawa, but the movement into the Osatsube ground seems to have its source off Esan. That is to say, the group liberated off Urakawa seems to have migrated into the Esan ground and rearranged within that ground before beginning the new migratory journey. The difference of the two population densities may be explained by the daily adding of individuals newly arrived at the Esan ground from some source near Urakawa, and they may swim about within the new fishing ground to feed for some days before migrating out of this ground. That

the dates when the diffusion front migrated into the Esan and Osatsube ground are Sept. 25 and Oct. 8 respectively may show that the population hesitated to begin a new migration journey for a rather long time compared to the groups liberated within the Esan ground itself, which migrated out without any remarkable hesitation. The fact that commercial catches of squid off Esan are more stable and more uniform throughout the season (Soeda, 1951) than in other fishing grounds such as the one off Hakodate, may be explained by this hesitation of squid population to migrate out of this area.

The density of the whole population in the source or fishing ground, of course differs from and is greater than the density of a group some members of which were liberated at some certain same day and appeared there, and therefore the variation of total catches does not follow a hyperbolic curve. The density may be expressed as

$$\sum_i \frac{N_i}{T_{oi}+T_1+t_i}$$

where $\sum_i$ means the summation of all shoals which have migrated into the fishing ground from the diffusion sources in diffusive mevements.

The diffusion speeds calculated above vary between 1.2 miles and 5 miles per day according to the geographical regions and perhaps to the season of the year, but the accuracy of the calculation is limited.

The shoaling habit of squids, however, seems to be rather weak and the boundary of any single shoal seems to be very vague in these areas.

## References


Kuroki. T. (1953). A relation between the fluctuations of catches and the diffusive movements of fish-schools. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **19** (4).

Soeda, J. (1948). What is the reliable fishing grounds of cuttlefish at Hakodate-off and Esan-off, considering the results of tagging experiments ? *J. Hokkido Fish. Sci. Inst.* **5** (7).

Soeda, J. (1950). The migration of the squid (*Ommastrephes sloani pacifcus STEENSTRUP*) in the coastal waters of Japan. *Sci. Pap. Hokkaido Fish. Sci. Inst.* (4).

Soeda *et al.* (1963). [Report of the investigation on marine resources in Hokkaido region.] no. 4. Hokkaido Fish. Sci. Inst.

# PHOTOGRAPHIC STUDY OF SUSPENDED MATTER AND PLANKTON IN THE SEA*

Satoshi NISHIZAWA, Masaaki FUKUDA and Naoichi INOUE
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

During the exploring cruise for undersea observations by the Undersea Observation Chamber, KUROSHIO-GO (Inoue *et al.*, 1953), the authors have succeeded in taking many photographs of the suspended matter and plankton *in situ* under the sea surface off Otaru, Hokkaido. Many particles of suspended matter, usually yellowish-white in the reflection of the search-light outside the Chamber, were always observable by naked eye through the window glass of the Chamber, though they were not apparent in the upper layer, shallower than about 10 m depth, probably due to the light background.

Several investigations have been made on these suspended matter in the sea, e. g., chemical analysis (Armstrong, 1950), microscopic observation (Tsujita, 1953; Suzuki & Kato, 1953) and optical characterization (Jerlov, 1952, 1953), these having all dealt with the materials sampled from the depth by means of ordinary oceanographic water bottles.

According to the direct undersea observation, however, some of the suspended matter has a considerable size as can be easily observed by naked eye, and those particles are apparently very fragile, so it may be supposed to be disintegrated when sampled by such a rough treatment as water bottle sampling. The direct measurement of size and density of suspended matter *in situ* by means of photography will reveal more correct feature of them.

In the photographs taken under the surface, plankton animals were caught together with suspended matter. Some discussion of the swimming motion of plankton as shown by tracing the locus of their movement in the figure, is also offered in the present study.

## Apparatus

The illumination is given by a mercury vapour lamp of 300 w from the side so as to project the light beam 5 cm thick and 14 cm wide, parallel with the face of window glass of the Undersea Observation Chamber, apart from it by about one meter.

In some cases, a small transparent plastic box, 15 cm in height, 20 cm in width and 5 cm in thickness, is set in front of the window glass of the Chamber. The top and bottom plates of the box can be closed or opened by handling the gear

* Contribution No. 4 from the Committee of the Undersea Observation

inside the Chamber. Thus the suspended matter and plankton captured in the box are not disturbed by the turbulence of water outside. The water contained in the box was kept in constant relation to the posotion of the observers, notwithstanding of the movement of the Chamber.

Setting the camera close to the window glass and using the FOCABELL of Orion Camera Co., Ltd., Tokyo, the box is brought into focus.

**Suspended Matter in the Middle Layer**

Figure 1 shows the suspended matter caught in camera in the middle layer quite distant from the sea bottom. These are typical suspended particles found in the coastal water. Most of the suspended particles are larger than about one mm in diameter, the largest one being about 3 mm. Goldberg *et al.* (1952) stated that there are not any suspended particles larger than 130 micron in diameter, after they are combined with some reagent, while Jerlov (1953) assumed from photometric examination that size of the suspended matter in general equals or exceeds one micron and finer materials is of minor importance. He added that big particles above one mm are occasionally present in the samples but never observed in the deep-sea samples.

Since the size determination of the above preceding authors was done on the sampled water, the disintegration of the particles might have occured during the process of sampling.

In the present observation, the suspended particles were sometimes found to be connected togetherm forming an elongated mass (fig. 1, a) or more loosely connected, forming something like a string of beads (fig. 5).

**Particles Stirred up from the Bottom**

When the Chamber was lowered near the bottom, the bottom water was much disturbed due to the pitching movement of the Chamber itself, resulting in the stirring up of many particles which had been settled on the bottom. Figure 2 was taken near the bottom at about 50 m depth by allowing the outflow and inflow of water through top and bottom openings of the box. In the figure the distribution of the stirring particles will indicate the stream lines of eddy motion of the water, some of them drawing curved locus. It was perceived that the particles in this case were rather small, below one mm in size, and more abundant as compared with the ordinary suspended matter in the middle layer.

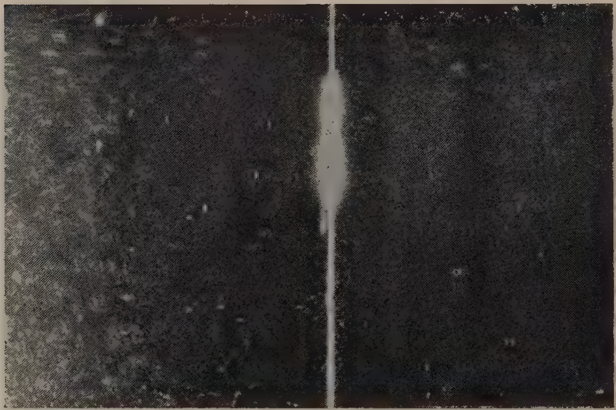
**Movement of Plankton**

Comparatively large animal plankton, such as arrow worms and copepods, are often present in the figures. Although it is very difficult to distinguish the bodies of plankton from the ordinary suspended particles, some of the images can be



× 1

Fig. 1. Typical suspended particles found in the middle layer of coastal water, photographed at 50 m depth where the sea depth is 75 m



× 1

Fig. 2. Particles stirred up from the sea bottom, photographed at 50 m depth



× 1

Fig. 3. Swimming animal plankton (*Sagitta* and copepods) and suspended particles photographed at 40 m depth



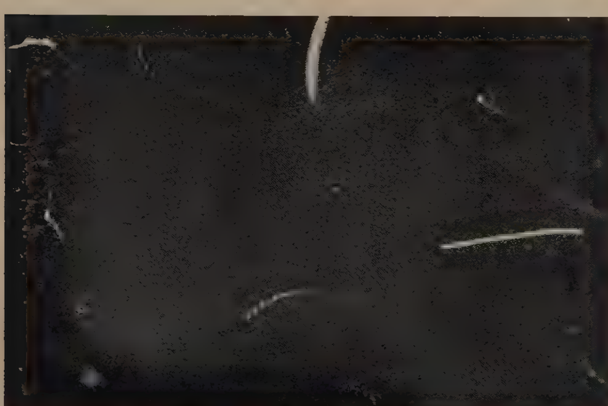

× 1

Fig. 4. Swimming animal plankton (*Sagitta* and copepods) and suspended particles photographed at 50 m depth



× 1

Fig. 5. *Sagitta* and suspended particles. A train of particles forming something like a string of beads is clearly shown. Photographed at 50 m depth.



× 1

Fig. 6. Locus of the swimming motion of copepods photographed at 50 m depth

identified to be copepods by their comparatively sharp and somewhat elongated contour (figs. 1 and 4). Their antennae are also perceived in the figure, appearing as minute projections (fig. 4, a). The image of arrow worms (*Sagitta*) is clearly shown in some figures (figs. 3 and 4).

Inasmuch as the mercury lamp was supplied with 50 cycle alternating current, the light being produced intermittently with a short period of about 1/100 second, the tracks of the motion of copepods were graphed as a series of intermittent dots (fig. 6). Some of the dotted lines are straight, but others are curved, corresponding to the movement of copepods (fig. 6).

An approximate swimming velocity, correctly speaking, the velocity component along the plane of photograph, can be calculated by measuring the length of tracks and number of dots. The mean velocity is calculated to be about 12 cm per second in the case of fig. 6. Some tracks are acutely bent at a point (fig. 6), probably indicating that copepod moved toward one direction, then stopped and darted again toward another direction. Time of rest of copepod at the point is calculated to be about 1/50 second.

The authors wish to express their deep thanks to Prof. S. Motoda, Faculty of Fisheries, Hokkaido University, for very helpful suggestion. They are also much obliged to Capt. S. Mishima and his crew of the Oshoro Maru, the training ship of the Hokkaido University, for providing facilities during the work at sea. This work has been rendered possible through the financial support of the Fishery Agency of the Ministry of Agriculture, for which authors express their deep appreciation.

## References

Armstrong, F. G. and Atkins, W. R. G. (1950). The suspended matter of sea water. *J. Mar. Biol. Assoc.* **29** (1).

Goldberg, E. D. *et al.* (1952). Microfiltration in oceanographic research. I. Marine sampling with the molecular filter. *J. Mar. Res.* **11** (2).

Inoue, N. *et al.* (1953). "KUROSHIO" undersea observation chamber. *Rec. Oceanogr. Works Japan. N. S.* **1** (1).

Jerlov, N. G. (1952). Particle distribution in the ocean. *Rep. Swedish Deep-sea Exped.* **3**. *Phys. and Chem.* No. 3.

Jerlóv, N. G. (1953). Influence of suspended and dissolved matter on the transparency of sea water. *Tellus* **5** (1).

Suzuki, N. & Kato, K. (1953). Studies on suspended materials Marine Snow in the sea. Part I. Sources of Marine Snow. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.* **4** (2).

Tsujita, T. (1953). A preliminary study on naturally occuring suspended organic matter in water adjacent to Japan. *J. Oceanogr. Soc. Japan* **8** (3-4).

# シラウオ (*Salangichthys microdon* BLEEKER) の生態について

堀田秀之・田村　正
(東北海区水産研究所)　(北海道大学水産学部 鹹水増殖学教室)

# An Ecological Note on the "Shirauo", *Salangichthys microdon* BLEEKER

Hideyuki HOTTA and Tadashi TAMURA
*Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory*　*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

## Abstract

The authors studied the ecological conditions in the anadromous period (spawning season) of "Shirauo" which have their lives in the sea.

The following results were obtained;

1. The meeting and parting of both sexes are considerably important points, it is shows a periodicity of 10—15 days.

2. In view of the degree of maturity and the mixing rate of the two sexes, it can be estimated that the spawning season continues for a considerably long period commencing in February and ending at the beginning of May.

3. On the mixing rate of the sexes, male is dominant in number in flood, and in ebb female occupies a larger portion.

4. The amount of catch changes according to the age of the moon and, generally speaking, catch is less at the spring tide of the new and full moon, though there are good catches at the neap tide.

5. As the results of artificial fertilization, so far as the authors know, it takes the hatch out 624 hours at about 9.5°C or 208 hours at about 14.5°C.

6. It is estimated that the mixing rate of the "Shirauo" in the "Shirasu" has relation to the migration and spawning, and then it seems to be a local condition.

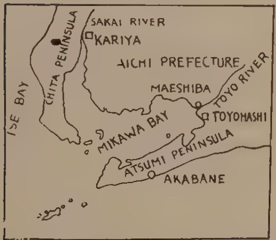



Fig. 1. The map of the Mikawa Bay

## I 緒　言

愛知県に於けるシラウオ漁業は，主として三河湾奥の豊川，矢作川等の各河川河口に於いて，古く永録年間（1558～1568）より創められて以来，抄網，掬網から現在の刺網へと発展をしてきた所謂零細なる漁業の1つである。シラウオは，外観透明な美しい小型の魚で三河の特産品として，昔は将軍家に献上せしものと云われている。

筆者等は本種の生態について調査する機会を得たのでその結果を報告する。

三河湾内外の調査地点は第1図に示す様に湾奥部の豊川河口の宝飯郡前芝村と境川河口の刈谷市及び湾外渥美半島太平洋沿岸の赤羽根地先である。

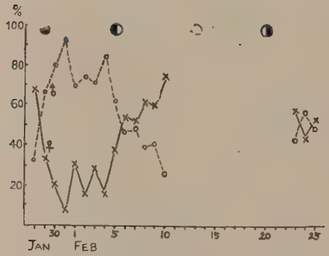



Fig. 2. The sex ratio of the "Shirauo" of the Sakai River

## II 遡上期（産卵期）に於ける生態

シラウオは，産卵の為に遡河洄游を行うので，その遡上期即ち産卵期が本漁業の漁期で，刺網漁船（無動力1～3屯）は夜間にガスランプを点火して操業するので，この漁船に便乗して採捕した材料に基いて調査を行つた。

（i） 雌雄比の変動

調査日毎に潮の漲落に関係なしに全部を纒めて，その雌雄比の変化を表わしたものが第1～2表及び第2～3図である。これらから雌雄の比は週期的に変化する様に見える。即ち2月下旬では雌が多いが次第に雄が多くなり全体の70～80%を占める様になり3月上旬後半には，再び雌雄同数に達しその後再び雌が次第に多

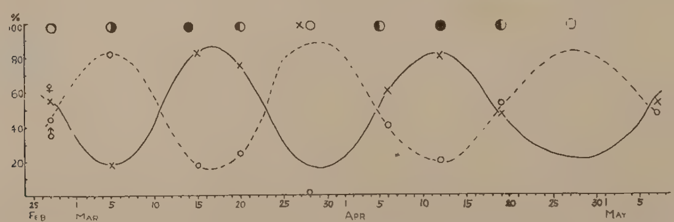



Fig. 3. The sex ratio of the "Shirauo" of the Toyo River

Table 1. The sax ratio of the "Shirauo" of the Sakai River (Kariya)

| Date | | | Female | Male | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| Jan. | 28 | '49 | 80 | 38 | 118 |
| 〃 | 29 | 〃 | 10 | 20 | 30 |
| 〃 | 30 | 〃 | 10 | 39 | 49 |
| 〃 | 31 | 〃 | 6 | 70 | 76 |
| Feb. | 1 | 〃 | 20 | 44 | 64 |
| 〃 | 2 | 〃 | 9 | 26 | 35 |
| 〃 | 3 | 〃 | 26 | 64 | 90 |
| 〃 | 4 | 〃 | 6 | 32 | 38 |
| 〃 | 5 | 〃 | 15 | 24 | 39 |
| 〃 | 6 | 〃 | 74 | 63 | 137 |
| 〃 | 7 | 〃 | 51 | 46 | 97 |
| 〃 | 8 | 〃 | 61 | 38 | 99 |
| 〃 | 9 | 〃 | 36 | 24 | 60 |
| 〃 | 10 | 〃 | 95 | 33 | 128 |
| 〃 | 23 | 〃 | 31 | 23 | 54 |
| 〃 | 24 | 〃 | 44 | 58 | 102 |
| 〃 | 25 | 〃 | 25 | 23 | 48 |

Table 2. The sex ratio of the "Sirauo" of the Toyo River (Maeshiba)

| Date | | | Female | Male | Total |
|---|---|---|---|---|---|
| Feb. | 27 | '37 | 103 | 83 | 186 |
| Mar. | 5 | 〃 | 18 | 113 | 131 |
| 〃 | 15 | 〃 | 155 | 28 | 183 |
| 〃 | 20 | 〃 | 40 | 13 | 53 |
| 〃 | 28 | 〃 | 108 | 1 | 109 |
| Apr. | 6 | 〃 | 12 | 8 | 20 |
| 〃 | 12 | 〃 | 307 | 77 | 334 |
| 〃 | 19 | 〃 | 8 | 9 | 17 |
| May. | 7 | 〃 | 32 | 29 | 61 |

くなつて雌雄の数が逆転する。この様に雌雄数の増減が交互に繰返し起つている（第3図）ことは雌雄が概して別個の群を作り，産卵期に合体し，終つて又離れるという生殖行動に起因するものと考えられる。この

様な例は茨城県沿岸に於いても明らかである。(第3表) この雌雄の離合集散の状態は，3月29日の記録を除けば大体10日～15日の間隔で起つているものと考えられる。この離合の状態からみて，シラウオの産卵時期は，両性の比の略々等しくなる時期と考えられ，相当長期間に亘り，或る短週期（10日～15日）をもつて産卵が行われているものと推察される。

Table 3. The sex ratio of the "Shirauo" off the coast of Ibaragi Prefecture

| Date | | | Locality | Female | Male | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Mar. | 14 | 19'51 | ISOHAMA | 58 | 0 | 58 |
| | 21 | '52 | " | 2 | 11 | 13 |
| | 24 | '51 | NATSUUMI | 5 | 1 | 6 |
| | 25 | " | " | 4 | 0 | 4 |
| Apr. | 16 | '52 | ISOHAMA | 1 | 0 | 1 |
| | 24 | '51 | NATSUUMI | 15 | 1 | 16 |
| | 28 | '50 | ISOHAMA | 9 | 12 | 21 |
| May | middle | 〃 | Mouth of HINUMAGAWA | 5 | 8 | 13 |

(ii) 生殖巣の成熟の様相

シラウオの成熟せるものは，外部より肉眼的観察によつても容易に識別し得るものである。即ち雌は腹部膨大し卵巣内の卵は個々に算することが出来て，腹部を軽く圧すれば卵を夥しく排出する。又雄も同様に精を勢よく射出する。放卵，放精後のものは，体著しく疲弊し，性の区別は臀鰭基部の鱗の有無によつても容易に区別出来る。この様にして区別された生殖巣の成熟度を各調査日毎にその出現割合で示したものが第4図である。3月中旬頃から放卵，放精後のものが10～40%認められる様になり4月には50%を示し5月上旬には90%以上という高い割合を示す。このことゝ前述の雌雄比の変動の状態とを考え合せると産卵初期は2月下旬産卵盛期は3月～4月上旬，産卵終期は4月～5月上旬であらうと云える。従来からいわれている産卵盛期と大体一致していることになる。

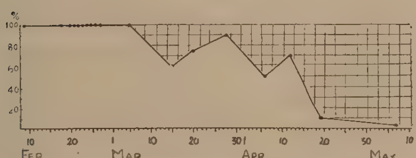


Fig. 4. The appearence of the mature fish

(iii) 潮の漲落と雌雄の移動

次に潮の漲落と雌雄の移動状態との関係をみる為に，漲潮時，落潮時毎に投網して調査した結果は第4表の通りである。漲潮時，落潮時共に雌雄比には有意の差が認められ（危険率1%），概して漲潮時には雄が多く，落潮時には雌が多いが週期的変化には変りがない。(Fig. 5) 即ち前項(i)で述べたものと同様である。従つて週期的な雌雄の遡上が何等かの原因によつて多少前後するものであろう。

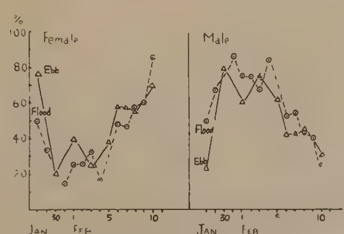


Fig. 5. The relation of the tide and the sex of "Shirauo"

(iv) 月令と漁獲との関係

月令による漁獲高，漁獲率の変異及び其の傾向について，愛知県衣ケ浦漁業協同組合の出漁日毎のシラウオの総漁獲高及び従事漁業者数の記録から1人当漁獲高を調査し，これらを図示したものが第6及7図である。

この漁業が月の盈虚に密接な関係を有することが判る。即ち月令満朔の大潮時には，1人当漁獲高は少な

Table 4. The relations of the tide and the sex of "Shirauo"

| Date | | | Flood | | | Ebb | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Female | Male | Total | Female | male | Total |
| Jan. | 28 | 19'49 | 18 | 19 | 37 | 62 | 19 | 81 |
| 〃 | 29 | 〃 | 10 | 20 | 30 | — | — | — |
| 〃 | 30 | 〃 | — | — | — | 10 | 39 | 49 |
| 〃 | 31 | 〃 | 4 | 25 | 29 | — | — | — |
| Feb. | 1 | 〃 | 10 | 29 | 39 | 10 | 15 | 25 |
| 〃 | 2 | 〃 | 9 | 26 | 35 | — | — | — |
| 〃 | 3 | 〃 | 16 | 34 | 50 | 10 | 30 | 40 |
| 〃 | 4 | 〃 | 6 | 32 | 38 | — | — | — |
| 〃 | 5 | 〃 | — | — | — | 15 | 24 | 39 |
| 〃 | 6 | 〃 | 28 | 30 | 58 | 46 | 33 | 79 |
| 〃 | 7 | 〃 | 21 | 24 | 45 | 30 | 22 | 52 |
| 〃 | 8 | 〃 | 28 | 21 | 49 | 33 | 27 | 60 |
| 〃 | 9 | 〃 | 36 | 24 | 60 | — | — | — |
| 〃 | 10 | 〃 | 30 | 5 | 35 | 65 | 28 | 93 |
| 〃 | 23 | 〃 | 31 | 23 | 54 | — | — | — |
| 〃 | 24 | 〃 | 24 | 30 | 54 | 20 | 28 | 48 |
| 〃 | 25 | 〃 | 25 | 23 | 48 | — | — | — |
| 〃 | 27 | '37 | 57 | 50 | 107 | 46 | 33 | 79 |
| Mar. | 5 | 〃 | 15 | 93 | 108 | 3 | 20 | 23 |
| 〃 | 15 | 〃 | 16 | 0 | 16 | 139 | 28 | 167 |
| 〃 | 20 | 〃 | 40 | 13 | 53 | — | — | — |
| 〃 | 28 | 〃 | — | — | — | 108 | 1 | 109 |
| Apr. | 6 | 〃 | 12 | 8 | 20 | — | — | — |
| 〃 | 12 | 〃 | 20 | 3 | 23 | 287 | 74 | 361 |
| 〃 | 19 | 〃 | 8 | 9 | 17 | — | — | — |
| May. | 7 | 〃 | 2 | 4 | 6 | 30 | 25 | 55 |
| Total | | | 466 | 545 | 1011 | 916 | 491 | 1407 |

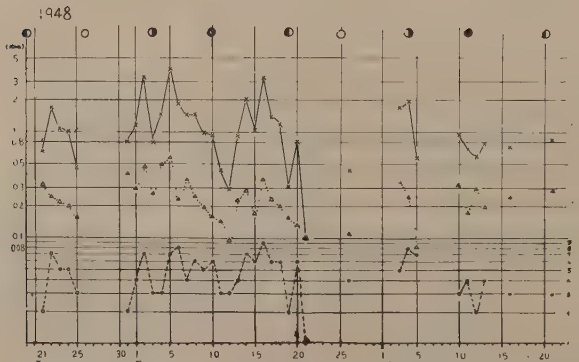



Fig. 6. The relation of the catch of the "Shirauo" and the moon age in 1948

く，小潮時に漁獲が多い傾向が認められる。この原因については，小潮時は潮の動きが小さい為に魚の往来が多いとか，澪筋にこの魚が多いが小潮時は潮が低いので魚道が狭くて従つて密集しているから漁獲率が良いとも云われている。又満月にはガスランプを使用するのでその効果が無いので殆んど出漁しない等極めて複雑であるが，月令によつて生ずる明暗度の変化，潮汐の変化による魚類の生理生態的変化を示す結果と一方には之等の原因による漁撈状態の異常等を考えることが出来る。

（v） 発　　生

乾導法によつて人工受精を行いその卵内発生経過の大略は，第1回（March 5'41）では受精後6時間で第2分割，12時間後で第4分割，240時間で頭部出現孵化迄には624時間（26日）を要したが第2回（April 28'41）には受精後208時間で孵化した。孵化仔魚は全長4.5mmであつた。上記実験期間中の附近の水温は第8図に示してある様に水温は次第に上昇している。水温が孵化時間に与える影響については多くの報告があるがシラウオでは実験回数が少いので明らかではないが水温が或る程度高い程孵化時間は早いことが推定される。

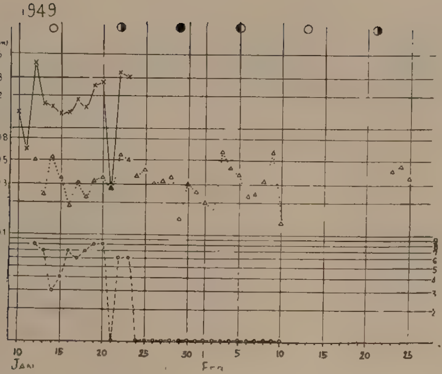



Fig. 7. The relation of the catch of the "Shirauo" and the moon age in 1949

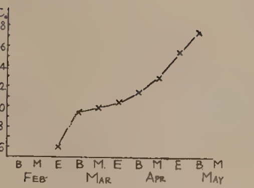



Fig. 8. The water temperature of the neighbourhood of experimental station during the embryological studies

## III 海産シラウオの生態

次に三河湾外太平洋沿岸の赤羽根地先で愛知県水産試験場がシラス曳網の漁獲物組成を調査したその記録から，シラスに混合してくるシラウオの消長及びその体長組成を示したものが第5表である。

7月から12月までの間は，2例（Aug. 3'44，Aug. 30'50）を除いては主としてカタクチイワシのシラスに僅かに混獲されているに過ぎない。又この附近のシラウオの漁期頃（1月～2月）でもアユのシラスに混

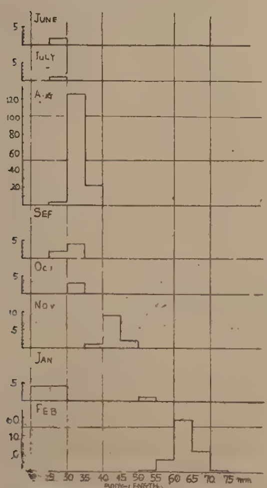



Fig. 9. The frequency curve of the body length in each months

Table 5. The body length and the frequency of the "Shirauo" from the catch of "Shirasu"

| Date | | | *S. microdon* | | | Dominant species and percentage in "Shirasu" | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Number | Per-centage | Body-length range(cm.) | | |
| Jun. | 19, | '50 | 1 | 1.0 | 3.0 | Anchovy | (97.0%) |
| 〃 | 20, | '43 | 2 | | 2.6—2.7 | 〃 | |
| Jul. | 18, | '44 | 4 | 0.4 | 2.9 | Anchhovy | (98.1%) |
| Aug. | 3, | 〃 | 758 | 95.0 | 2.7—3.6 | "Shirauo" | (95.0%) |
| 〃 | 7, | '43 | 3 | 0.7 | 3.1—3.2 | Anchovy | (91.4%) |
| 〃 | 30, | '50 | 86 | 88.8 | 3.4 | "Shirauo" | (88.8%) |
| Sept. | 17, | '44 | 3 | 0.3 | 2.6—3.3 | Anchovy | (62.8%) |
| 〃 | 27, | 〃 | 3 | 0.01 | ? | 〃 | (97.4%) |
| 〃 | 25, | 〃 | 3 | 0.25 | 2.7—3.2 | 〃 | (99.2%) |
| Oct. | 18, | 〃 | 3 | 0.3 | 3.0—3.5 | 〃 | (99.7%) |
| 〃 | 21, | 〃 | 5 | 0.78 | ? | 〃 | (91.4%) |
| Nov. | 1, | 〃 | 5 | 0.01 | 3.1—3.5 | 〃 | (99.0%) |
| 〃 | 14, | 〃 | 10 | 0.61 | 3.6—4.0 | 〃 | |
| Dec. | 2, | 〃 | 44 | 12.5 | ? | 〃 | (86.6%) |
| Jan. | 1, | 〃 | 9 | 0.83 | 2.1—5.2 | "Ayu" | (83.1%) |
| Feb. | 1, | 〃 | 26 | 0.18 | 5.9—6.9 | 〃 | (94.9%) |
| 〃 | 9, | 〃 | 74 | 12.8 | 5.7—7.0 | 〃 | (74.7%) |

* average

* 本邦に産するシラウオ属には数種が知られているが，こゝでは一応全部シラウオとして取扱つておく。しかし筆者の1人（堀田 1951）が赤羽根に近い高豊村で1月，3月にシラス曳網中のシラウオはイシカワシラウオであつたことを報じたことからこの記録にはシラウオ *Salangichthys microdon* とイシカワシラウオ *S ishikawai* の両種が混在しているものと思われる。

獲されるだけであるが静岡県吉田村地先（大井川河口）ではこの頃にはシラス漁獲物の殆んど大部分が本種で占められて居り（第5表）又茨城県沿岸でも本種の漁期中（3月，4月）にはやはりシラス中の混合比が多いことゝ対比して考えると，シラウオのシラス中の消長は，その洄游状態，産卵と密接なる関連を有し，その現象は極めて局部的なものと思われる。漁獲月毎に纒めた体長頻度分布を画くと第9図を得る。これから産卵，孵化後の6月以降極めて順調に時期と共に成長していくことが判る。この様なことは茨城県沿海に於ても認められる。（第6表）

Table 6. The frequency of the the body length of the "Shirauo" in each months

| Class of total length (mm) | Mar. | Apr. | May | Jun. | Jul. | Aug. | Sept. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 10—15 | | — | — | 4 | — | — | — |
| 15—20 | | 1 | 1 | 44 | — | — | 1 |
| 20—25 | | 13 | 17 | 89 | 1 | 1 | 7 |
| 25—30 | | 9 | 76 | 236 | 21 | — | 3 |
| 30—35 | | 2 | 124 | 578 | 80 | — | 1 |
| 35—40 | | — | 56 | 300 | 87 | 11 | 45 |
| 40—45 | | — | 1 | 3 | 4 | 8 | 31 |
| 45—50 | | — | 2 | — | | | |
| 50—55 | | — | 4 | — | | | |
| 55—60 | | — | — | — | | | |
| 60—65 | 14 | 8 | — | — | | | |
| 65—70 | 58 | 19 | — | — | | | |
| 70—75 | 6 | 10 | 1 | 2 | | | |
| 75—80 | 1 | — | | | | | |
| 80—85 | | — | | | | | |
| 85—90 | | — | | | | | |
| 90—95 | | — | | | | | |
| 95—100 | | — | | | | | |
| 100—105 | | — | | | | | |
| 105—110 | | 1 | | | | | |

## Ⅳ 摘　要

シラウオの遡上期及び海産シラウオの生態について調査した結果は次の通りである。

1. 遡上期では，雌雄の離合集散が非常に顕著で，その状態は10日〜15日の短週期をもつて行われている様である。
2. 生殖巣の成熟の様相と雌雄比の交替状況とから，産卵期は相当長期間に亘り，産卵初期は2月下旬，盛期は3月〜4月上旬末期は5月上旬と思われる。
3. 漲潮時には概して雄が多く，落潮時には雌が多いと云える。
4. 大潮時には単位当漁獲高が少く，小潮時には漁獲が多い傾向が認められる。
5. 孵化に要する時間は，水温9.5°C程度で624時間，14.5°C程度で208時間で，孵化仔魚は全長4.5mmであつた。
6. 海産シラウオのシラス中の消長はその洄游産卵と密接なる関係を有し，その現象は局部的なものであらうと考えられる。

本文を終るに当り種々御指導をいたゞいた名大教授浜井生三博士並びに有益なる助言を与えられた元愛知水試技師丹羽錬一，安田治三郎の両氏及び調査に御協力いたゞいた衣ケ浦漁業協同組合久米新次郎氏に対し衷心より謝意を表する。尚茨城県沿海の資料を提供していたゞいた茨城県水試藤本武氏に厚くお礼を申し述べる。

## Ⅴ 文　献

茨城県水産試験場（1912）．茨城県霞ケ浦及北浦漁業基本調査報告 I．
脇谷洋次郎・高橋仁助（1913）．動物学雑誌 **25**（301）．
三重県水産試験場（1924）．三重水試事業報告．
鈴　木　　順（1942）．水産研究誌 **37**（1）．
愛知県水産試験場（1945）．赤羽根地先シラス調査（プリント）．
山 本　孝 治（1948）．水産界（77）．
田 内　森三郎（1949）．水産物理学，朝倉書店．
石 山　礼 蔵（1950）．水産研究誌 **40**（2）．
堀 田　秀 之（1951）．日本水産学会誌 **16**（8）．
矢口正直・岸本　武（1951）．茨城県に於けるシラスについて（プリント）．
――――・――――（1951）．シラウオ産卵調査（プリント）．

# 塩辛の細菌学的研究

## 第7報　細菌の蛋白質分解酵素について（其の2）

### 再び *Bacillus subtilis* の蛋白質分解酵素の賦活性物質について

長　尾　　清
（北海道大学水産学部水産細菌学教室）

# Bacteriological Studies of Shiokara or "Soused Squid"

## 7. On the proteolytic enzymes of bacteria

### Part II. On the activator of the proteolytic enzyme of *Bacillus subtilis* (continued)

Kiyoshi NAGAO
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

**Abstract**

The present author prepared a proteolytic enzyme of *Bac. subtilis* which was isolated from Shiokara, by treatment with acetone and ether.

(1) This enzyme was activated by $Co^{++}$and $Zn^{++}$. When $Co^{++}$or $Zn^{++}$was added at the start of hydrolysis, a definite lag phase was observed before the first order reaction took place. When the enzyme was treated, however, with $Co^{++}$or $Zn^{++}$at 37°C. for three hours before the substrate was added, the hydrolysis took place according to the first order reaction without any lag phase. This enzyme was not activated by $Mg^{++}$

(2) The $Co^{++}$enzyme was more active in the presence of phosphate buffer than veronal buffer.

(3) The hydrolysis rate was proportional to the enzyme concentration.

(4) $Ca^{++}$ion acts as an inhibitor of this enzyme in the absence of phosphate, but this inhibitation did not occur with phosphate buffer apparently because of the removal of calcium.

(5) This enzyme was also activated by ascorbic acid and reductic acid.

(6) The author attempts to determine the mechanism of enzymatic protein breakdown. The proteolysis was compared to an explosive disintegration whereby the large molecule is split into many small products without an accumulation of intermediates. Such "*all or none*" splitting was observed when gelatin was exposed to the action of this enzyme.

著者は前報[1]に於て塩辛中より分離した *B. subtilis* の菌体より acetone-ether 処理によつて得た乾燥菌体より蛋白質分解酵素を抽出し，この酵素が $Mn^{++}$及びcysteineにより活性化される。Endopeptidaseが之等賦活性物質により活性化された為か，酵素液中に共存している exopeptidase が活性化された為か，或は endo-peptidase と exopeptidase の両者が活性化された為か否かは不明であるが，$Mn^{++}$は酵素蛋白質と緩慢に作用し，化学的に結合する様で，$Mn^{++}$と酵素を燐酸buffer溶液と共に3時間，37°にて作用させた後，基質を加えた場合は，$Mn^{++}$，酵素，燐酸 buffer 溶液及び基質を同時に加えた場合よりも活性度は大である。又$Mn^{++}$

の濃度と活性度は正比例する。之に反して cysteine で活性化される場合は cysteine，酵素及び基質を同時に加えた場合が活性度大である事を述べた。

本報に於ては$Co^{++}$，$Zn^{++}$，$Mg^{++}$，$Ca^{++}$，ascorbic acid 及び reductic acid による影響についての実験結果を報告する。動植物組織から得られた exopeptidase は $Mn^{++}$，$Co^{++}$，$Zn^{++}$及び$Mg^{++}$により活性化される事が知られている。即ち leucine aminopeptidase [2) 3)] は $Mg^{++}$ 及び $Mn^{++}$，glycylglycine dipeptidase [3) 4) 5)] は$Co^{++}$及び$Mn^{++}$，glycyl-L-leucine dipeptidase [6)] は$Mn^{++}$及び$Zn^{++}$，prolidase [7)] は$Mn^{++}$，yeast polypeptidase [8)] は$Zn^{++}$及び$Co^{++}$，prolinase [9) 10)] は$Mn^{++}$，Carboxypeptidase [11)] は$Mg^{++}$によつて活性化される。著者の実験に供した酵素液は恐らく色々な酵素が混合していると思われ，しかも基質として使用したgelatinは特異な蛋白質で，その主な構成アミノ酸はglycine, proline, hydroxyprolineやleucine等である。著者の使用した酵素が gelatin を分解する事と，gelatin の構成アミノ酸から考察すると，この酵素には leucine aminopeptidase, glycylglycine dipeptidase, glycyl-L-leucine dipeptidase, prolidase, prolinase, carboxypeptidase 等の exopeptidase が共存していると思われる。著者の実験結果からこの酵素は $Co^{++}$，$Zn^{++}$，ascorbic acid 及び reductic acid によつても活性化される。$Mg^{++}$によつては殆んど活性化されない。$Ca^{++}$により阻害されるが，$Ca^{++}$による阻害は燐酸 buffer 溶液を使用する事により除かれる事がわかつた。

蛋白質の酵素分解の機構を確定しようとする2，3の研究があるが，未だ明確なる結果を得ていない。Ovalbumin が pepsin の作用をうけると，約35%の蛋白質が分子量1,000以下の peptide に分解され，25%が分子量1,000—10,000 の peptide に，10%が10,000—30,000の分子量の断片に，30%が更に大きな断片になる。[12)] Tiselius 及び Eriksson-Quensel [13)] は醋酸中に於ける ovalbumin を少量の pepsin で分解した生成物を電気泳動によつて研究し，分解された大部分はかなり分子の小さい polypeptide になつてしまつているのに拘らず，なほ元の ovalbumin が残つている事を認めた。即ち酵素の作用を受けた蛋白質分子はバラバラに小さく分解されているに反し，残つた分子は全然変化を受けていない。言いかえれば，それは限られた数の peptide 結合の急激な分解であつて，沢山の結合の緩慢な分解ではない。この様な分解を Tiselius 及び Eriksson-Quensel は "*all or none*" 型分解或は爆発的分解（explosive decomposition）と云つている。しかし Moring-Claesson [14)] はこの説を否定する様な結果を報告している。彼等は結晶性卵 albumin を pepsin で分解したものについて丹念な研究を行い，分解初期に於ける生成物は decapeptide 又はそれ以上の高分子 peptide で，分解末期には大部分が tripeptide であつた。所が Beloff 及び Anfinsen [15)] は "*all or none*" 説を支持する様な結果を得ている。彼等は卵 albumin，血清 albumin，γ-globulin 及び fibrin を pepsin 又は trypsin で種々の程度に分解し，各段階に於て残つた蛋白質を沈澱せしめた後，残つた polypeptide について全アミノ窒素及び末端アミノ窒素を測定し，その比は常に大体3：1であつた。しかもこの値が分解の如何なる段階に於ても同じであつたので，上記の様な蛋白質が酵素で分解される時は初めから tripeptide が出来ることになる。この事は明らかに "*all or none*" 分解説を支持するものである。著者は細菌酵素によつて蛋白質を分解した際も分解された大部分がかなり小さい分子になつているに拘らず，なほ元の蛋白質が残つている事を認めたので "*all or none*" 説を支持する結果を得たので実験結果について報告する。

## 実　験　方　法

**酵素液調製法**　Bouillon（broth）培地に *B. subtilis* を接種し，37°，24時間培養し，発育した菌苔を集め水洗後，濾紙にて水分を吸取り湿潤菌体を得た。この湿潤菌体を冷 acetone 処理，冷 acetone-ether 処理後，冷 ether で脱水，デシケーターに入れ乾燥粉末を得た。この乾燥菌体に75% glycerine 溶液を加え，メノー乳鉢にてよくつぶし，酵素を抽出後，遠心分離し上澄液を酵素液とした。

**酵素活性化の測定法**　酵素液 0.5cc に 0.067M 燐酸 buffer 溶液（pH7.2）4cc を加え，この中に$Co^{++}$，$Zn^{++}$，$Mg^{++}$，$Ca^{++}$，ascorbic acid 及び reductic acid の濃度が夫々$10^{-2}$Mとなる如く $CoCl_2$，$ZnCl_2$，$MgSO_4$，$CaCl_2$，ascorbic acid 及び reductic acid を加え（実際には酵素液0.5ccに燐酸 buffer 溶液3ccを加え，これに賦活性物質を入れた buffer 液1ccを加え，全量4.5cc中に賦活性物質の濃度が$10^{-2}$Mとなる様

にした），3時間，37° の恒温水槽中にて反応させた後，0.1% gelatin 液8 cc と更に燐酸 buffer 溶液 7.5cc を加え，37° に保ち，前報[1] 同様の方法で上記反応液2 ccについて未分解のgelatinを除いた液中の$NH_2$—N量を Folin 法により sodium β-naphthoquinone-4-sulfonate で呈色させ，過剰の naphthoquinone を脱色剤で脱色し，この液を25cc とし，この液を厚さ1.5cmの Cüvett にとり $NH_2$—N 量を比色定量した（従つて賦活性物質の反応液中の終末濃度は $2.25\times10^{-3}$Mとなる）。又酵素液 0.5cc に燐酸 buffer 溶液 4 cc及びこの混液に $10^{-2}$Mとなる様に夫々賦活性物質を加え，同時に燐酸 buffer 溶液7.5ccと gelatin 液 8 ccを加えたもの及び賦活性物質を全然加えないものにつき前同様の方法で$NH_2$—N 量を測定した。

## 実 験 結 果

### I. $Co^{++}$, $Zn^{++}$及び $Mg^{++}$による影響について

実験結果を Fig. 1 に図示した。即ち著者の使用した酵素は $Co^{++}$ 及び $Zn^{++}$ によつて活性化される。又 $Co^{++}$ 及び $Zn^{++}$ と酵素を3時間作用させた後，基質を加えて分解したものと，同量の金属イオンと酵素及び基質を同時に加えて作用させたものを比較すると，前者の分解速度が大である。$Mg^{++}$によつては殆んど活性化されないのみならず，$Mg^{++}$，酵素及び基質を同時に加えた場合は阻害する。

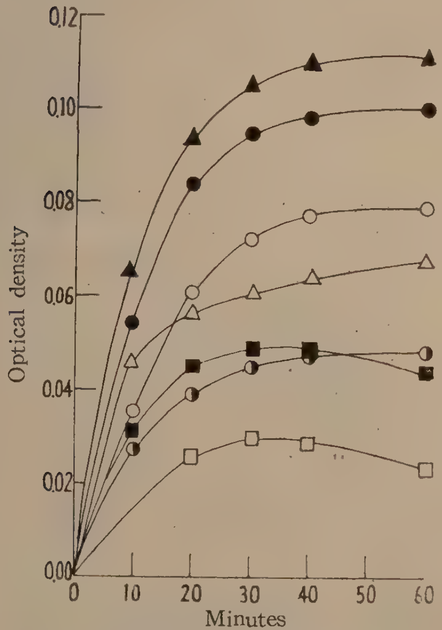



Fig. 1. Effect of $Co^{++}$, $Zn^{++}$and $Mg^{++}$

When $Co^{++}$ or $Zn^{++}$ was added at the start of hydrolysis, a definite lag phase was observed. When the enzyme was treated, however, with $Co^{++}$ or $Zn^{++}$ at 37°C. for three hours before the substrate was added, the hydrolysis took place according to the first order reaction without any lag phase. This enzyme was not activated by $Mg^{++}$.

● $10^{-2}$M $Co^{++}$ (final concentration $2.25\times10^{-3}$M) +Enzyme, Preincubated.
○ $10^{-2}$M $Co^{++}$ (*ibid*) + Enzyme + Substrate, Simultaneously.
▲ $10^{-2}$M $Zn^{++}$(*ibid*) + Enzyme, Preincubated.
△ $10^{-2}$M $Zn^{++}$(*ibid*) + Enzyme + Substrate, Simultaneously.
■ $10^{-2}$M $Mg^{++}$(*ibid*) + Enzyme, Preincubated.
□ $10^{-2}$M $Mg^{++}$(*ibid*) + Enzyme + Substrate, Simultaneously.
◑ No addition.

Enzyme solution : Supernatant from 0.0531g. bact/cc glycerin (in the case of $Co^{++}$ and $Zn^{++}$), 0.0487g. bact/cc glycerin (in the case of $Mg^{++}$).

### II. Buffer 溶液による影響について

$Co^{++}$ で酵素を活性化する場合，buffer 溶液として燐酸 buffer を用いた場合と veronal buffer を用いた場合を比較した結果を Fig. 2 に図示した。即ち燐酸 buffer を使用した場合は veronal buffer を使用した場合より活性度大である。

### III. 酵素濃度と反應速度について

$Co^{++}$ で酵素を活性化する場合，$Co^{++}$ は一定量（$10^{-2}$M，反応液中の終末濃度は $2.25\times10^{-3}$M）加え，酵素の濃度を変えて，gelatin の分解速度を比較した結果を Fig. 3 に図示した。即ち酵素濃度と反応速度は正比例する。

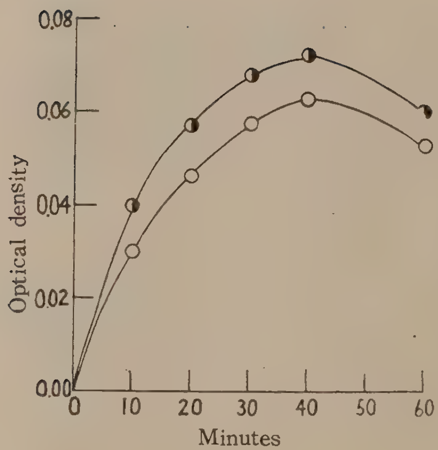



Fig. 2. Effect of metal ion and phosphate

◑ $10^{-2}$M $Co^{++}$(final concentration $2.25\times10^{-3}$M) + M/10 Phosphate + Enzyme, Preincubated.

○ $10^{-2}$M $Co^{++}$(*ibid*) + M/10 Veronal + Enzyme, Preincubated.

Enzyme solution : Supernatant from 0.0279g. bact/cc glycerin.

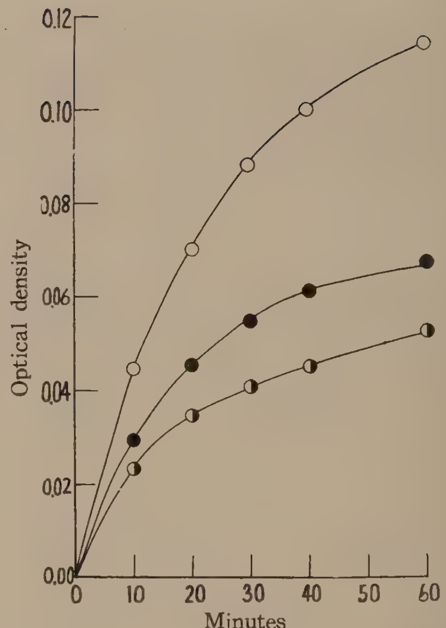



Fig. 3. Effect of the enzyme concentration

The enzyme was treated with $10^{-2}$M $Co^{++}$ (final concentration $2.25\times10^{-3}$M) before the substrate was added.

Enzyme solution :

○ Supernatant from 0.0633g. bact/cc glycerin.

● Supernatant from 0.0319g. bact/cc glycerin.

◑ Supernatant from 0.0159g. bact/cc glycerin.

### IV. $Ca^{++}$ による影響について

色々な哺乳動物組織から得られた glycyl-L-leucine dipeptidase は $Mn^{++}$ 及び $Zn^{++}$ により活性化されるが，燐酸 buffer を使用しない場合，$Zn^{++}$ 及び $Ca^{++}$ により阻害される。[6] 著者は酸，アルカリで pH を調節し，$10^{-2}$M $Ca^{++}$ を加えた場合(反応液中の終末濃度は $2.25\times10^{-3}$M となる) 酵素作用は阻害されるが，燐酸 buffer を使用した場合は $Ca^{++}$ による阻害は除かれる事を知つた。之は燐酸塩の存在下では燐酸カルシウムとなる為であると思われる。実験結果を Fig. 4 に図示した。

### V. Ascorbic acid 及び Reductic acid による影響について

Ascorbic acid による酵素の活性化は Fig. 5 に図示した様に ascorbic acid と酵素を 3 時間作用させた後，基質を加えた場合は，ascorbic acid と酵素及び基質を同時に加えた場合より活性度は大であつた。この結果は前報 [1] に於て報告した cysteine による活性化の場合と逆になつている。Cysteine による活性化は還元作用か或は SH 基の作用のいずれかにより，ascorbic acid による活性化は還元作用によるものと考えられるので，この点を確める為に還元作用を有する reductic acid による影響を測定した結果 $10^{-2}$M 濃度 (反応液中の終末濃度は $2.25\times10^{-3}$M) で顕著な活性化が見られ，しかも reductic acid と酵素を予め作用させたものが活性度大である。次に還元型の reductic acid を沃度で処理して，酸化型にした場合は阻害作用が表われた。しかしこの際は沃度カリの影響もあるので，これのみでは断定出来ない。Ascorbic acid の水溶液を数週間自然に室温に放置して酸化型にした場合，殆んど活性化せず，酸化型 ascorbic acid と酵素及び

基質を同時に加えた場合やゝ阻害作用が表われている。以上の実験から ascorbic acid と reductic acid による活性化は還元作用によるものと思われ，この場合酵素と賦活性物質を予め作用させたものが活性度大である。Cysteine による活性化は SH 基の作用によるものと思われ，この場合は酵素，賦活性物質及び基質を同時に加えた方が活性度大である。

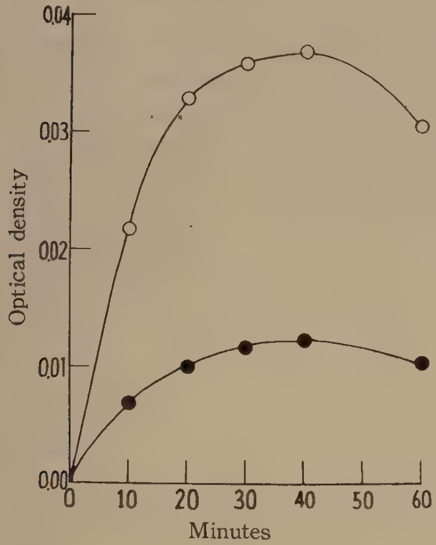



Fig. 4. Effect of $Ca^{++}$

This ion acts as an inhibitor of this enzyme in the absence of phosphate, but such inhibitation was not observed with phosphate buffer.

○ $10^{-2}$M $Ca^{++}$(final concentration $2.25\times10^{-3}$M) + Phosphate + Substrate + Enzyme, Simultaneously.

● $10^{-2}$M $Ca^{++}$ (*ibid*) + Substrate + Enzyme, Simultaneously.

Enzyme solution : Supernatant from 0.0250g. bact/cc glycerin.

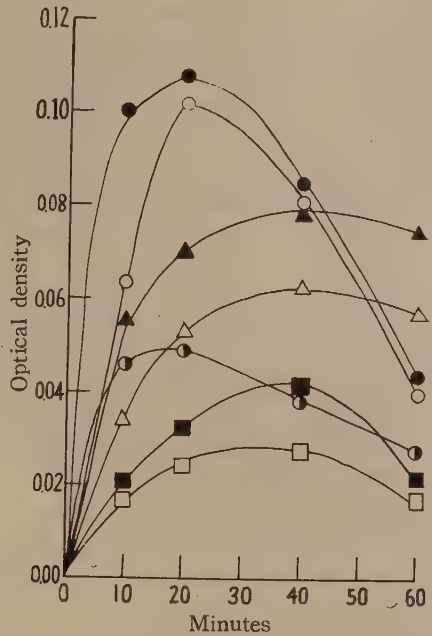



Fig. 5. Effect of ascorbic acid and reductic acid

▲ $10^{-2}$M Ascorbic acid (final concentration $2.25\times10^{-3}$M) + Enzyme, Preincubated.

△ $10^{-2}$M Ascorbic acid (*ibid*) + Enzyme + Substrate, Simultaneously.

● $10^{-2}$M Reductic acid (*ibid*) + Enzyme, Preincubated.

○ $10^{-2}$M Reductic acid (*ibid*) + Enzyme + Substrate, Simultaneously.

◑ $10^{-2}$M Reductic acid (*ibid*, oxidized with $I_2$) + Enzyme, Preincubated.

■ $10^{-2}$M Ascorbic acid (*ibid*, naturally oxidized) + Enzyme, Preincubated.

□ $10^{-2}$M Ascorbic acid (*ibid*, naturally oxidized) + Enzyme + Substrate, Simultaneously.

Enzyme solution : Supernatant from 0.0487g. bact/cc glycerin (in the case of ascorbic acid), 0.0250g. bact/cc glycerin (in the case of reductic acid and naturally oxidized ascorbic acid), 0.0326g. bact/cc glycerin (in the case of reductic acid which was oxidized with $I_2$).

### VI. 蛋白質分解の機構について

$Co^{++}$にて酵素を活性化した後（37°，3時間）基質を加え，一定時間毎に未分解の gelatin—N 量と $NH_2$—N 量を測定した結果を Fig. 6 に図示した。しかし Folin 法によるとアミノ酸以外の物質でも呈色するので，この方法で測定した吸収度から $NH_2$—N 量に換算すると誤差を生ずるので，同時に Ninhydrin 法[16)17)]で α—アミノ酸を定量し，之より$NH_2$—N 量に換算した。Ninhydrin 法で α—アミノ酸を定量した場合，40分まで増加しているが以後減少している。これは α—アミノ酸が更に低級

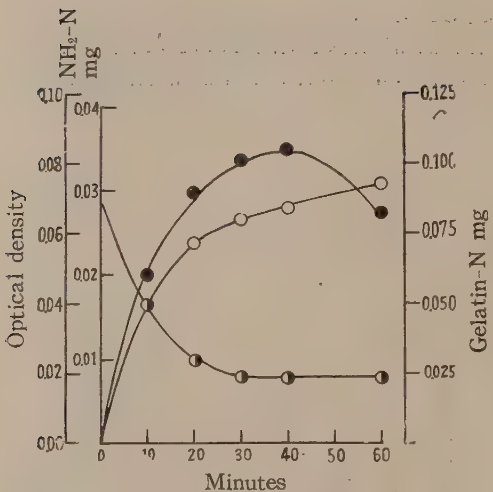



Fig. 6. Changes in the amount of amino-nitrogen and gelatin-nitrogen during the hydrolysis

The enzyme was treated with $10^{-2}$M $Co^{++}$ (final concentration 2.25 × $10M^{-3}$) before the substrate was added.

○ $NH_2$-N by the Folin Method.

● $NH_2$-N by the Ninhydrin Method.

◐ Gelatin-N

Enzyme solution : Supernatant from 0.0230g. bact/cc glycerin.

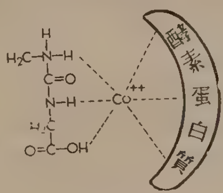
な物質に分解された為と思われる。未分解の gelatin は α—アミノ酸量が最大に達した時にも存在する。α—アミノ酸量が最大に達した時の $NH_2$ —N 量は，この反応液を塩酸で完全加水分解したものゝ $NH_2$ —N 量（反応液 1 cc 中に 0.054mg）の約64%に相当する。しかもこの時の未分解の gelatin 量は初濃度の約34%残存し，これ以後未分解の gelatin はそのまゝ残存するが，α—アミノ酸は更に低級分子に分解されると思われる。Gelatin 分子と α—アミノ酸の中間分子については測定していないが，未分解の gelatin 量と α—アミノ酸量から考えると，中間の polypeptide は殆んど存在していないと思われる。これは細菌酵素による gelatin の分解は Tiselius 及び Eriksson-Quensel の云ふ "*all or none*" 型にて分解されると云つてよいと思ふ。

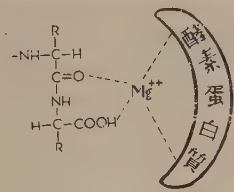
## 考　　察

*B. subtilis* の菌体を acetone-ether で処理し，乾燥菌体を作り，之より抽出した酵素液は gelatin を基質とすると $Mn^{++}$ [1)]，$Co^{++}$，$Zn^{++}$，cysteine [1)]，ascorbic acid 及び reductic acid によつて活性化され，$Mg^{++}$ によつては殆んど活性化されず，$Ca^{++}$ によつて阻害される。この酵素液は色々な酵素の複合酵素系であり，基質は高分子の蛋白質である為，endopeptidase がこれ等賦活性物質で活性化された為か，exopeptidase が活性化された為かは合成 peptide を基質として研究を進めないと断定する事は勿論出来ない。尚之等賦活性物質で酵素を活性化し，gelatin の分解を Folin 法で測定した場合，用いた賦活性物質の種類により吸収度が最高に達した後，そのまゝ一定値を保つ場合と減少する場合とがある。又稀に同一賦活性物質を用いてもこの様な現象が表われる事がある。これは如何なる理由によるか不明である。アミノ酸が更に低級分子に分解した為と一応は考えられるが，それにしても減少度が甚だしい場合があるのでこの原因は目下の所不明である。実験はすべて数回繰返し行つたものである。

Apoenzyme 分子は２つの重要な機能即ち（1）結合族（prosthetic group）の賦活，（2）基質との結合，という機能をもつていると考えられる。この結合族の賦活を説明する為，結合族は apoenzyme によつて基質との反応に特に都合のよい様な空間的配置に固定されると仮定されている。この様にして基質と活性団との衝突が容易にされるという事は非常に考え易い。一方或る apoenzyme は単に結合族と結合するのみならず，一時的に基質分子とも結合するらしい。金属を含んだ peptidase の作用様式がこれであつて，その金属原子は基質と金属の結合の配位中心となる。[11) 18]　基質—結合族—apoenzyme 複合体の作用により基質が apoenzyme に非常に近接されるので反応がより一層容易に起り得ると考えられる。現在結合族或は基質と結合する apoenzyme の之等の反応基の化学的性質に関してはなにも解つていない。しかしこの問題の解決は酵素作用を理解する上の先決条件である。現在に於ける最良の理解像は，apoenzyme の結合基は極性基であ

り，この極性基が一種の結合族或は基質の逆の写し（negative print）を作るので，これ等結合族や基質は逆の鋳型（negative mold）の中にはまり，そこで相補的に出来上つた面と面との間の多数の双極子—双極子結合により固定されるのではないかと考えられる。[11) 18) 19)] 以上の論点から Smith は $Co^{++}$ と $Mg^{++}$ による exopeptidase の賦活は右図の様に基質—結合族—apoenzyme の複合体を作つているだらうと述べている。




著者の実験結果から Smith の云ふ基質—金属—apoenzyme 複合体を作つているとは勿論断定出来ないが，之等金属イオンは酵素蛋白質との間に緩慢な反応が行われ，金属イオンと酵素を予め作用させた後基質を加えて分解したものと，金属，酵素及び基質を同時に加えたものと比較すると，前者の分解速度が大である事実は恐らくこの複合体を作つているものと考えられる。

蛋白質分子の分解様式について２つの機構が考えられる。即ち（１）酵素の作用点からアミノ酸を切りはなしていくこと。その為蛋白質分子を作つている peptide 鎖は，全部アミノ酸に分解されてしまうまで順次に分解されていくことになる。（２）は蛋白質の巨大分子をある程度の大きさの subunit に分解し，次いでそれが更に小さい断片に分解され遂にアミノ酸にまで分解されていくと云ふもの。尚（１）と（２）の中間の分解過程や，双方の組合せも考えられる。この蛋白質分解の機構についての明確な解決は，理論的に重要であるのみならず，化学的，生物学的立場からも非常に重要な問題である。もし蛋白質分解が（１）の如く行われるならば，蛋白質は直接アミノ酸に変わるはずで，中間の polypeptide は極く少量，しかも短かい間存在するだけである。一方蛋白質が一旦大きな subunit に分解されるとすると，これ等の polypeptide は多量存在しなくてはならず，又その結果細胞液の滲透圧や其の他の物理化学的特性を著しく変える事になるであらう。Kühne（1885）並びに Hofmeister 一派の実験は，蛋白質が胃液や膵液等の酵素混合液で処理された場合，中間産物として albumose と peptone が出来るとした。勿論 albumose も peptone も一様な物質ではなくて，色々の大きさの polypeptide の混合物である事は明らかである。更に cysteine や tyrosine の様な若干のアミノ酸は，albumose や peptone と一緒に塩析される。それ故これ等の物質自体に関する研究は信用されていない。しかし蛋白質分解の際の之等中間産物は蛋白質構造に関する問題の解決への最も有力な実験的証拠である。著者の実験結果を見ると，α— アミノ酸量が最大になつた時の量は，この反応液を塩酸で完全加水分解した場合の α—アミノ酸量の約64%に達している。しかもこの時期にも未分解の gelatin が高分子のまゝ存在している。この時期をすぎると未分解の gelatin はそのまゝ残存するが，α— アミノ酸は更に低分子に分解されていると思われる。Gelatin 分子と α— アミノ酸の中間分子については測定していないが，未分解の gelatin 量と α—アミノ酸量から考えると，中間の polypeptide は殆んど存在していないと思われる。これは前記（１）の機構によるものと思われ，Tiselius 及び Eriksson-Quensel の云ふ *"all or none"* 型にて分解されたと思われる。尚 Ninhydrin 法では α—アミノ酸のみ測定出来るが，Folin 法でアミノ酸以外の物質でも呈色するので，Folin 法で測定した値は Ninhydrin 法で測定した値より大きな値が出る様に思われたが，実際にはこの逆であつた。これは gelatin の主な構成アミノ酸である hydroxyproline が他のアミノ酸に比べ Folin 法による呈色強度が弱い[20) 21)]ためと，又 Ninhydrin 法では aspartic acid と cystine は ninhydrin と反応して２分子の炭酸ガスを出す為に起因していると思われる。

## 要　　　約

著者が塩辛中より分離した *B. subtilis* の菌体を acetone-ether 処理し，乾燥菌体を作り，之より抽出した蛋白質分解酵素液は gelatin を基質とすると，

（1） $Co^{++}$ 及び $Zn^{++}$ によつて活性化され，$Mg^{++}$ によつて活性化されない。又 $Co^{++}$ 及び $Zn^{++}$ と

酵素を予め作用させた後基質を加えて分解させたものと，賦活性物質，酵素及び基質を同時に加えて分解させたものと比較すると，前者の分解速度は大である。

（2） $Co^{++}$で酵素を活性化する場合，buffer 溶液として燐酸 buffer を使用した場合は，veronal buffer を使用した場合より活性度大である。

（3） 反応速度は酵素濃度に比例する。

（4） $Ca^{++}$ によつて阻害されるが，燐酸塩存在下では $Ca^{++}$ による阻害は表われない。

（5） Ascorbic acid 及び reductic acid によつて活性化される。

（6） この酵素による gelatin の分解様式は Tiselius 及び Eriksson-Quensel の云ふ *"all or none"* 型である。

終りに臨み，貴重な reductic acid を心よく御分譲下され，種々御助言御指導をいたゞいた本学斎藤恒行教授に深甚なる謝意を表すると共に，本研究に協力された小菅孝男氏に感謝の意を表します。

## 引 用 文 献

（1） 長尾（1953）．北大水産彙報 **4**，96．
（2） Smith, E. L. (1946). *J. Biol. Chem.* **163**, 15.
（3） Berger, J. and Johnson, M. J. (1939). *J. Biol. Chem.* **130**, 641.
（4） Maschmann, E. (1941). *Biochem. Z.* **319**, 28.
（5） Smith, E. L. (1948). *J. Biol. Chem.* **173**, 571.
（6） Smith, E. L. (1948). *J. Biol. Chem.* **176**, 9.
（7） Smith, E. L. (1948). *J. Biol. Chem.* **173**, 553.
（8） Smith, E. L. (1951). *The Enzymes.* (edited by Sumner, J. B. & Myräck, k.) **1**, 793.
（9） Fruton, J. S. (1946). *J. Biol. Chem.* **166**, 721.
（10） Berger, J. & Johnson, M. J. (1940). *J. Biol. Chem.* **133**, 639.
（11） Smith, E. L. & Hanson, H, T. (1948). *J. Biol. Chem.* **176**, 997.
（12） Haurowitz, F. (1952). *Chemistry and Biology of Proteins.*
（13） Tiselius, A. & Eriksson-Quensel, I. B. (1939). *Biochem. J.* **33**, 1752.
（14） Moring-Claesson, I. (1948). *Biochim. et Biophys. Acta.* **2**, 389.
（15） Beloff, A. & Anfinsen, C. B. (1948). *J. Biol. Chem.* **176**, 863.
（16） Christensen, B. E., West, E. S. & Dimick, K. P. (1941). *J. Biol. Chem.* **137**, 735.
（17） 長尾（1953）．北大水産彙報 **3**，265．
（18） Smith, E. L. & Hanson, L. T. (1949). *J. Biol. Chem.* **179**, 803.
（19） Kaufman, S. & Neurath, H. (1949). *J. Biol. Chem.* **181**, 623.
（20） Frame, E. G., Russell. F. J. A. & Wilhelmi, A. E. (1943). *J. Biol. Chem.* **149**, 255.
（21） Chinard, F. P. & Van Slyke, D. D. (1947). *J. Biol. Chem.* **169**. 571.

# 塩辛の細菌学的研究

## 第8報 *Bacillus subtilis* による Arginine の代謝について

長　尾　　清
（北海道大学水産学部水産細菌学教室）

# Bacteriological Studies of Shiokara or "Soused Squid"

## 8. On the metabolism of arginine by the intact cells of *Bacillus subtilis*

Kiyoshi NAGAO
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

### Abstract

1. The intact cells of *Bac. subtilis* were able to accumulate arginine, in the free state in the internal environment, and the concentration within the cells was higher than that existing in the external medium at equilibrium. The concentration of free arginine within the cell was determined by the balance between the rate at which the amino acid entered the cell and the rate at which it was being metabolized within the cell. A considerable portion of arginine that entered the cell appeared to be converted into cellular matter in subsequent reactions. The passage of the arginine into the cell may be produced by physical diffusion or by an active process on the part of the cell.

2. The washed cell suspensions of *Bac. subtilis* yielded evidence consistent with the idea that the following metabolic pathway was involved.

```
                          Arginine
                             ↓
                          Ornithine   +    Urea
                         ↙    ↓
Carboxylic acid ← Proline ← Glutamic acid
```

Citrulline was not found as an intermediate and was not attacked and therefore was ruled out as a possible intermediate.

著者は塩辛中に ornithine が存在している事を報告した。[1] これはイカ肝臓の arginase か或は細菌の arginine分解酵素によつて生じた代謝産物であると思われるので，先ず著者が塩辛中より分離した*B.subtilis* の arginine 代謝について実験した。動物肝臓等の arginase については有名な Krebs の ornithine cycleが知られている。腐敗細菌による arginine の分解について，arginine から ornithine を生成する。これは arginase と urease の作用によつて生成されたものであらうと云ふ古い報告がある。[2] しかし細菌による arginine の分解の際には尿素が生成されないと古くから云われている。 Hills[3] はグラム陽性球菌による arginine の分解について，1分子の arginine から1分子の ornithine，2分子の $NH_3$と1分子の$CO_2$を生ずる。Citrulline はこの酵素によつて分解されないから，citrullineは中間生成物でない。Hillsはこの酵素を肝臓の arginase と区別する為に arginine dihydrolase と名付けた。Slade及びSlamp[4]はgroup *D.streptococcus* について arginine を含む培地に培養すると arginine dihydrolase の活性度大であると報告している。Horn[5]

は *B. pyocyaneus* による arginine の分解について中間生成物として citrulline を分離し，この反応に関与する酵素を arginine desimidase と名付けた。友田[6]も *B. pyocyaueus, Salmonella enteritidis* にこの酵素の存在する事を報告している。最近赤松，関根[7]は *Streptococcus faecalis* について，arginine dihydrolase は2つの酵素の混合によるもので，Hills と異なり中間生成物として citrulline を生成する。この2つの酵素を metarginase と citrullinase とよび，metarginase は Horn の arginine desimidase と同一のものであると報じている。

$$\text{Arginine} \xrightarrow[\text{or arginine desimidase}]{\text{metarginase}} \text{citrulline} + NH_3 \qquad \text{Citrulline} \xrightarrow{\text{citrullinase}} \text{ornithine} + NH_3 + CO_2$$

Schmidt, Logan 及び Tytell[8] は *Clostridium perfringens* (BK6K) について，Oginsky 及び Gehrig[9]は *Streptococcus faecalis* について同様の結果を得ている。

著者が *B. subtilis* について以上の各代謝形式と異なる結果を得たのでこゝに報告する次第である。

## 実験方法

**1. 菌浮遊液の調製法** Bouillon 培地 (broth, pH7.0) に *B. subtilis* を接種し，37°，18時間培養した菌体を集め，菌体を2度蒸溜水で洗滌，最後に菌体を homogenizer にて homogenize し，蒸溜水に懸濁させた。菌量は光電比色計を用い，懸濁液の吸収度を測定して適当な濃度に稀釈する。予め菌体懸濁液の吸収度と菌体乾燥重量の標準曲線を出しておく。著者は 4 mg. dry wt./cc の菌量の菌浮遊液を常に用いた。

**2. Arginine の定量法**[10] 反応液に三塩化醋酸を加え，除蛋白した液を坂口反応の改良法で呈色させ，530mμ の filter を用い光電比色した。坂口反応は arginine のみならず guanidyl 基を有する物質はすべて呈色する。

**3. Citrulline の定量法**[11] 反応液に三塩化醋酸を加え，除蛋白後，尿素を除き diacetylmonoxime でpink 色に呈色させ，470mμ の filter を用い光電比色した。この場合酸化剤として燐酸－硫酸混液を用いた。

**4. Ornithine 及び proline の定量法**[12][13] 反応液に三塩化醋酸を加え，除蛋白後，pH 1 の酸性で ninhydrin と反応させると ornithine は特有の赤色を呈するので，530mμ の filter を用い光電比色した。しかしこの場合 proline も ornithine と同様に呈色するので，両者が存在する場合はその総量が測定される。

**5. 尿素の定量法**[14] 反応液に三塩化醋酸を加え，除蛋白後，diacetylmonoxime で黄色に呈色させ，470mμ の filter を用い光電比色した。

**6. 検圧法による尿素の定量法**[15] Warburg 検圧計を用い間接法により測定した。菌浮遊液 2 cc (8 mg. 菌体)，arginine 0.4cc (40μM)，M/5醋酸 buffer (pH5.0) 1 ccを38°で反応させ，一定時間後，この反応液を15分間煮沸して酵素を破壊し，次にこの液を再び主室に入れ，更に3N 醋酸 buffer 1 cc 及び 2 cc を入れ，側室に3％urease 溶液0.5ccを入れ，$CO_2$量を測定しこれより尿素量に換算した。使用した urease は市販 urease 粉末を用いた。

**7. $CO_2$の測定法**[15] Warburg 検圧計を用い間接法により測定した。主室に菌浮遊液 2 cc (8 mg. 菌体)，M/5醋酸 buffer (pH5.0) 1 cc及び 2 ccを入れ，側室に arginine 0.4cc (40μM) を入れ38°にて検圧した。

**8. Paper chromatography による検出法** 一次元，上昇法による。東洋濾紙 No.50を用いた。

**9. Urease の測定法** 使用菌体の urease を測定する為，主室に菌浮遊液 2 cc (8 mg. 菌体)，醋酸buffer 1 cc及び 2 ccを入れ，側室に0.6μM尿素を入れ，38°にて$CO_2$量を測定した。

## 実験結果並びに考察

細菌の酵素は発育時の培地pH 及び反応pHにより，その反応機構及び酵素活性が異なる。今回は発育時の培地pH7.0，反応pH5.0，反応温度38°の場合についてのみ報告する。

基質 L-arginine 40μM，醋酸 buffer 液及び菌浮遊液を Warburg 検圧計の容器に入れ，38°で反応させ，$CO_2$ 量及び尿素量を測定し，又一定時間後，容器中の反応液に三塩化醋酸を加え，遠心分離後，上澄液中の

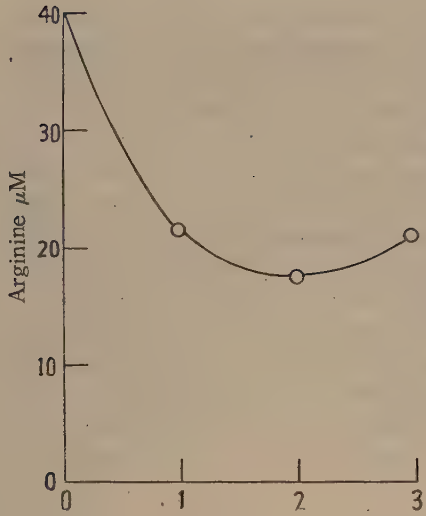



Fig. 1. Changes of rate of arginine disappearance during the incubation of arginine with washed cell suspensions of *Bac. subtilis*

Incubation temperature 38°C. pH of reaction mixture 5.0; acetate buffer employed. The Warburg flasks contained 1 cc of 5/M acetate buffer, pH 5.0, 2cc of cell suspension (8 mg. dry wt. of cells) and 0.4cc of arginine (40 μM). The arginine content of 10 per cent trichloroacetic acid filtrates of reaction mixtures was measured by the Sakaguchi method as modified by Macpherson.[10] Final coloured solution adjusted to 25cc.

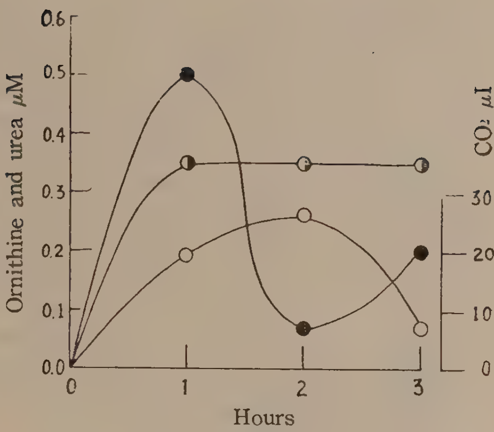



Fig. 2. Changes during the incubation of arginine with washed cell suspensions of *Bac. subtilis*

Incubation temperature 38°C. pH of reaction mixture 5.0; acetate buffer employed. The Warburg flasks contained same mixture as described in fig.1 in the case of ornithine determination. The ornithine content of 10 per cent trichloracetic acid filtrates of reaction mixtures was mesaured colorimetrically by a procedure employed by Stein and Moore.[12] $CO_2$ was measured by Warburg's "indirect method." Urea was measured by manometric method.[15]
◑ Ornithine production　○ $CO_2$ production
● Urea production

arginine, ornithine 及び citrulline を測定した結果を Fig. 1,2 に図示した。即ち arginine 量は顕著に減少するに拘らず，ornithine，尿素及び $CO_2$ 量は微量生成されているにすぎない。尿素の量は検圧法と比色法で測定したが殆んど同じであつた。又 citrulline は生成されていない。これは何か別な物質に代謝されていると思われるので，paper chromatography で代謝産物の検出を行つた。溶媒は phenol (phenol 100gに水23gを添加)，methanol (methanol：水=8:2) 及び m-cresol (25%量の水を加えた)を用い，一次元，上昇法により展開し，ninhydrin の butanol 溶液で呈色させると，Fig. 3に図示した様に arginine，ornithine のほかに glutamic acid，proline 及び黄色に呈色する未知物質が検出された。Citrulline は chromatography によつても検出されない。又 phenol で展開したものに坂口反応液[16]をスプレーすると Rf 0.4~0.7に亘つて坂口反応陽性の物質が検出された。n-butanol・pyridine・氷醋酸・水 (4:1:1:2) の混液を溶媒として展開し，坂口反応液をスプレーすると arginine (Rf 0.20) のほかに稀に Rf 0.35, 0.45, 0.60に spot が検出される場合がある。Glutamic acid の量は測定していないが，chromatogram 上の呈色強度から見ると少量しか存在しない様である。Proline は前述の様に ornithine との総量が測定されているのでこの量も非常に少ない。Glutamic acid が検出されているので，α—ketoglutaric acid の存在を推定し，2,4—dinitrophenylhydrazin を加えたがα—ketogluataric acidのhydrazoneは検出されなかつた。[17] Chromatogram 上でninhydrin反応で黄色を呈する未知物質は amine が考えられるが，diazo 反応，亜硝酸反応，isonitril 反応，Wagner 試薬反応及び Mayer 試薬反応はいずれも陰性である。塩化第二鉄による有機酸の定性反応で赤褐色の沈澱

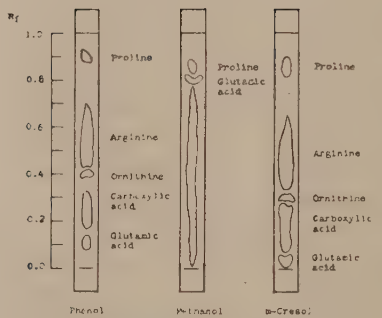



Fig. 3. Paper chromatograms of reaction mixtures

Run in phenol (contained 23 per cent of water), methanol (methanol:water=8:2), m-cresol (contained 25 per cent of water). Sprayed with ninhydrin-butanol solution.

を生ずるので有機酸であると思われる。以上の実験で arginine 量は顕著に減少しているが，その代謝産物である ornithine, 尿素, $CO_2$, glutamic acid, proline 及び有機酸らしい物質が検出されたが，これ等はいずれも微量生成されているにすぎない。

しかし Gale[18] は *Streptococcus faecalis* が細胞膜を通じて環境即ち細胞膜外のアミノ酸 (lysine, glutamic acid, ornithine 及び histidine) を外界の濃度の約40倍の濃度に細胞膜を通じて濃縮し，しかも遊離の状態で保持している。又13種のグラム陽性菌及び3種の酵母についてもこのアミノ酸の濃縮作用が見られるが11種のグラム陰性菌は lysine 及び glutamic acid を濃縮する事が出来ないと報じている。著者はこの濃縮機構によって arginine が *B. subtilis* の細胞内に濃縮されているのではないかと考えた，そこで菌体 40mgに対して醋酸 buffer を入れた 200$\mu$M arginine に33°，1時間接触させた菌体を充分水洗後，硫酸で加水分解したものと，arginine に接触させない同量の菌体を硫酸で加水分解したものゝ全窒素を micro-Kjeldahl 法で測定すると， 菌体8 mgに対し， 接触させたものは 0.6480mg-N,接触させないものは0.4866mg-Nで,接触させた事によつて0.1614mg-N が菌体中に増加した事になる。次に菌体8 mg に対して醋酸 buffer と共に40$\mu$Mの arginine に33° で接触させ，遠心分離した後菌体を充分水洗し，沸騰水中で20分間加温し[14] 細胞膜を破壊し，遠心分離後， 細胞内に遊離の状態で存在する arginine の量を坂口反応で呈色，光電比色した。対照として接触させない同量の菌体を同様の方法で加温，遠心分離後，坂口反応で呈色させたものゝ透過率を 100% に合せた。Fig.4はこの方法で菌体内に遊離の状態で濃縮増加された arginine 量を図示した。即ち接触1時間後には 8.25 $\mu$M の arginine が菌体内に増加している。それ以後菌体内の遊離の arginine 量は減少しているが， 之は菌体内で他のアミノ酸に代謝されたか或は体構成蛋白質になつた為と思われる。勿論こゝで遊離の arginine と云ふているのは厳密に言へば guanidyl 基を有する物質を云ふ，又 ornithine も同様濃縮作用が考えられるが，尿素及び$CO_2$ 量から考えて微量生成されているにすぎないから，若し濃縮されたとしてもこの量は問題にならないであらう。

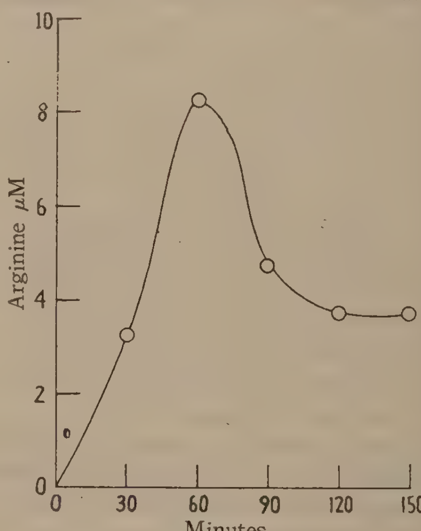



Fig. 4. Accumulation of free arginine within *Bac. subtilis*

Organism grown for 18 hrs. at 37°C. in broth. Accumulation of internal free arginine determined before and after incubation at 33°C. in buffered salt solution containing 0.4 cc arginine (40$\mu$M), 1 cc acetate buffer (pH5.0) and 2 cc cell suspension (8 mg. dry wt. of cells). Determination of free arginine within cells was as follows: reaction mixture was heated for 20 minutes in a boiling water bath and this heated reaction mixture was assayed for arginine by the Sakaguchi method. Final coloured solution adjusted to 25 cc. Results expressed as $\mu$M increased in free arginine/ 8 mg. dry wt. of cells.

細菌の物質代謝経路を追及する方法として逐次適応法（同時適応法）が広く用いられる様になり，tryptophane, tyrosine 等の代謝経路がこの方法で明らかにされた。この方法はAという物質を基質として細胞群に加えるとAを分解する酵素系が細胞内に生産される。AがB，C，D等の物質を経て代謝されるとするならば，Aを加えた時細胞内に形成される酵素系はA→Bえの反応を触媒する酵素は勿論，B→C，C→D等の酵素をすべて含んでいる。つまり，A→B→C→D→と酵素系が逐次に形成されるのである。A適応菌はB，Cを誘導期なく直ちに分解する。又Bに適応した菌は同様Cを直ちに分解するが，Aはある一定の誘導期を経て，即ちA→B間に関与する酵素系が形成されて始めて分解される。これ等の事実を逆に利用して未適応菌及び適応菌が中間代謝物と考えられる色々な物質をどの様に分解するかを調べ，代謝過程を推定する方法である。著者の実験の場合，主な代謝過程は生体内への arginine の濃縮過程であり，生体外に出される代謝産物は少量であるので，生体外に出される arginine の代謝経路を逐次適応法で Warburg 検圧計で $O_2$ の uptake を追及して行くのみでは難があるので，paper chromatography を用い代謝経路を追究した。先ず arginine 適応菌，ornithine 適応菌，glutamic acid 適応菌及び proline 適応菌を作り，arginine, ornithine, glutamic acid 及び proline を基質とし（いずれも 40μM）醋酸 buffer と共に38°，1時間反応後，三塩化醋酸で除蛋白した液を，一次元上昇法で展開し，ninhydrin で呈色させた。溶媒として phenolを用ひた実験結果をTable 1に表示した。未知物質と云ふのは Rf 0.1 の spot で赤に呈色している。逐次適応法によりこの物質の代謝経路を表わすと次の様になる。

Arginine
↓
Ornithine ＋ Urea
↙ ↓
Carboxylic acid←Proline←Glutamic acid

Table 1. Metabolite in rection mixtures

| Substrate / Metabolite | Cells adapted with arginine | | | Cells adapted with ornithine | | | Cells adapted with glutamic acid | | | Cells adapted with proline | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ornithine | Glutamic acid | Proline | Arginine | Glutamic acid | Proline | Arginine | Ornithine | Proline | Arginine | Ornithine | Glutamic acid |
| Arginine | | | | ＋ | | | ＋ | | | ＋ | | |
| Ornithine | ＋ | | | | | | | ＋ | | | ＋ | |
| Glutamic acid | ＋ | ＋ | | | ＋ | | | | | | | ＋ |
| Proline | ＋ | ＋ | ＋ | | ＋ | ＋ | | | ＋ | | | |
| Carboxylic acid | ＋ | ＋ | ＋ | | ＋ | ＋ | | | ＋ | | | ＋ |
| Unknown | ＋ | | | | | | ＋ | | | ＋ | | |

Incubation of substrate for one hr. at 38°C. with the cells adapted with each substrate. Adapted cells were prepared by the incubation of substrate with intact cells at 38°C. for one hr., then the cells were washed twice with distilled water. Ascending paper chromatograms were employed in the identification of metabolite.

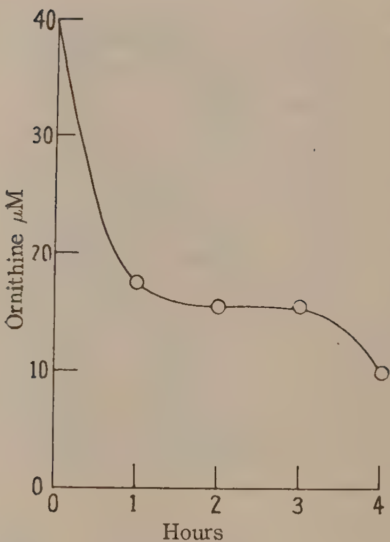



Fig. 5. Changes of rate of ornithine disappearance during the incubation of ornithine with cells adapted with arginine

Such adapted cells were made by the incubation of arginine (40$\mu$M) with intact cells at 38°C. for one hr., then the cells were washed twice with distilled water. Incubation temperature 38°C. pH of reaction mixture 5.0. The Warburg flasks contained 1 cc of acetate buffer (pH5.0), 2 cc of cell suspension (8 mg. dry wt cells) and 0.4 cc of ornithine (40$\mu$M). The ornithine contnent of 10 per cent trichlcroacetic ac:d filtrates of reaction mixtures was measured colorimetrically by the same procedure as that employed by Stein and Moore.[12]

Ornithine は5炭素アミノ酸で proline, glutamic acid との相互移行が考えられる。最近 Roloff[19] は重水素を含む ornithine を二十日鼠に与えその体蛋白質のアミノ酸を検べたところ，proline と glutamic acid に相当量の重水素が移行していたと述べ，Stetten及び Schoenheimer,[20] Stetten[21,22]は proline と ornithine は α—ケトδアミノ緑草酸を中間体として相互に移行し得ると云つている。この様に proline, glutamic acid 及び ornithine は化学的に近接している丈でなく生理的にも深い関係があり生体内で互に移行出来るものと見られる。著者の得た実験結果は Stetten 等が二十日鼠で行つた代謝経路と殆んど同じである。細菌についてこの様な代謝過程は未だ報告されていない様である。

又 arginine と菌浮遊液の接触により1時間後には ornithine と尿素がほとんど等モル濃度生成されている。Arginine 適応菌に醋酸 buffer と共に 40$\mu$Mの L-ornithine に反応させると Fig. 5 に図示した様に反応液中のornithine は速かに代謝され減少するが，DL-citrulline に反応させると citrulline は代謝されない。Ornithine がこの様に速かに代謝されるとすると，arginine と反応して生成された ornithine も速かに代謝され消出されなければならないが実際は Fig. 2 に図示した様に反応一時間後は一定量に保たれている。これはいかなる理由によるか不明であるが，恐らく ornithine が代謝されたと云ふのは arginine の場合と同様に生体内に濃縮されて行く過程が主で生体外に代謝される量は微量である為であらう。尿素量は反応後1時間で最大量に達し，以後減少しているが之は菌体に適応的に urease が生成された事に起因すると思われたが，実際に菌浮遊液に尿素を作用させ検圧法及び反応液中の尿素の残存量を比色定量した結果では殆んどureaseは生成されなかつたので，arginine との反応により生成された尿素がどの様な機構により代謝されるか不明である。

## 要　約

1. *B. subtilis* の生菌 (intact cell) は生細胞内に遊離の状態で arginine を濃縮蓄積する事が出来る。生細胞内の遊離の arginine の濃度は環境の濃度より高い。細胞内に蓄積された遊離の arginine はその後の代謝により細胞構成物質に変化する。

2. *B. subtilis* の生菌により arginine は次の様な経路により代謝される。

Arginine
↓
Ornithine ＋ Urea
↙ ↓
Carboxylic acid←Proline←Glutamic acid

citrulline は中間産物として検出されないし又生菌により酸化されない。従つて citrulline はこの代謝に関与しないと思われる。

終りに臨み，本研究に協力された宗像一郎氏に感謝の意を表します。

## 引　用　文　献


(1) 長　尾 (1953). 北大水産彙報 3, 259.
(2) Ackermann, D. (1908). *Z. physiol. Chem.* **56**, 305.
(3) Hills, G. M. (1940). *Biochem. J.* **34**, 1056.
(4) Slade, H. D. & Slamp, W. C. (1952). *J. Bact.* **64**, 455.
(5) Horn, F. (1933). *Z. physiol. Chem.* **216**, 244.
(6) Tomoda, S. (1941). *Tohoku J. Exp. Med.* **41**, 317.
(7) AKamatsu, S. & Sekine, T. (1951). *J. Biochem.* Japan **38**, 349.
(8) Schmidt. G. C., Logan, M. A. & Tytell, A. A. (1952). *J. Biol. Chem.* **198**, 771.
(9) Oginsky, E. L. & Gehrig, R. F. (1952). *J. Biol. Chem.* **198**, 791, 799.
(10) Macpherson, H. T. (1942). *Biochem. J.* **36**, 59.
(11) Archibald, R. M. (1944). *J. Biol. Chem.* **156**, 121.
(12) Stein, W. H. & Moore, S. (1951). *J. Biol. Chem.* **190**, 103.
(13) Chinard, F. P. (1952). *J. Biol. Chem.* **199**, 91.
(14) Ormsby, A. A. (1942). *J. Biol. Chem.* **146**, 595.
(15) Umbereit, W. W., Burris, R. H. & Stauffer, J. F. (1951). *Manometric Techniques and Tissue Metabolism.*
(16) 佐　竹 (1953). 標準生化学実験.
(17) 朝井・相田 (1952). 日 農 化 **26**, 528.
(18) Gale, F. F. (1947). *J. Gen. Microbiol.* **1**, 53.
(19) Roloff, M., Ratner, S. & Schoenheimer, R. (1940). *J. Biol. Chem.* **136**, 561.
(20) Stetten, M. R. & Schoenheimer, R. (1944). *J. Biol. Chem.* **153**, 113.
(21) Stetten, M. R. (1949). *J. Biol. Chem.* **181**, 31.
(22) Stetten, M. R. (1951). *J. Biol. Chem.* **189**, 499.

# 塩辛の細菌学的研究

## 第9報 *Bacillus subtilis* のグルタミン酸脱水素酵素について

長尾　清
（北海道大学水産学部水産細菌学教室）

# Bacteriological Studies of Shiokara or "Soused Squid".

## 9. On the glutamic dehydrogenase of *Bacillus subtilis*

*Kiyoshi* NAGAO
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

**Abstract**

The formation of enzyme within the cell was conditioned by the chemical constitution of the medium, by the physicochemical conditions holding during growth and by the age of the culture.

1. The change in the external pH during growth was followed by alteration in glutamic dehydrogenase content of the cells, but the pH optimum activity (pH7.4) dces not vary with growth pH.

2. The variation of potential activity and effective activity of enzyme with pH of medium during growth were studied. The potential activity was roughly constant whatever the pH in the medium. The effective activity was greatly affected by the pH of medium during growth. The potential activity is that activity estimated at the optimal activity pH of the enzyme and it represents the total formation of enzyme within the cell; The effective activity is the activity estimated at the pH of the environment in which the cell was grown.

3. The presence of sodium chloride in the substrate solution inhibits any activity of this enzyme.

4. This enzyme was formed to a greater extent when growth occurs at 37° than when at 23,° 30° and 42.°

5. This enzyme was formed during growth, reaching a maximum at about the time of cessation of cell division. After the end of the growth the activity declined.

細菌によるアミノ酸の生合成について次の反応が知られている。

(1) $\text{Aspartic acid} \underset{}{\overset{\text{aspartase}}{\rightleftarrows}} \text{fumaric acid} + NH_3$

(2) $\text{Glutamic acid} + \text{Co II} \overset{\text{glutamic dehydrogenase}}{\rightleftarrows} \alpha\text{—iminoglutaric acid} + \text{reduced Co II}$

$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\uparrow\downarrow$

$\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\alpha\text{—ketoglutaric acid}$

(3) $\text{Glutamic acid} + R \cdot CO \cdot COOH \overset{\text{transaminase}}{\rightleftarrows} \alpha\text{—ketoglutaric acid} + R \cdot CHNH_2 \cdot COOH$

(4) $\text{Serine} + \text{indol} \rightarrow \text{tryptophan} + H_3O$

Glutamic dehydrogenase により glutamic acid より α—ketoglutaric acid が生成されるが，このものは糖代謝に重要な役割をはたすと共に，transaminase の反応に関与しアミノ酸の生合成に重要な鍵の役目を

している。又 alanine, serine 及び cysteine が分解されるといずれも pyruvic acid を生成するが，この pyruvic acid は又 transaminase の反応に関与している。

著者は前に塩辛熟成中の旨味の原因は monoamino—N 量の増加に起因するであらうと述べたが,[1] 旨味の源と考えられるアミノ酸が細菌（塩辛の熟成に関与する細菌）の生細胞の内外でいかにして生合成され或は代謝されて行くかと云ふ問題特に glutamic dehydrogenase と transaminase との関連について詳細に研究し，塩辛の旨味の問題を解決しようと思ふ。本報に於ては著者が塩辛中より分離した *B. subtilis* の glutamic dehydrogenase について実験した結果について報告する。

## 実験方法

**1. 菌浮遊液の調製法** 前報[2] に同じ，本報に於ては常に 1.28mg. dry wt./cc の菌量の菌浮遊液を用いた。尚菌体は寒天斜面培地に37,° 18時間培養発育させた。

**2. 酵素作用力の測定法** Thunberg 管の反応管に $M/_{50}$glutamate 3 cc, $M/_{15}$燐酸 buffer 3 cc及び$M/_{10000}$ methylene blue 1 ccを入れ，側室に菌浮遊液1 ccを入れ，30° の水槽中で排気後，側室の菌浮遊液を反応管に混入させ，反応を開始させ，反応開始時から methylene blue の脱色する迄に要した時間を測定した。この場合 methylene blue の脱色する時間は光電比色計を用ひ，620mμ のfilter を用い透過中100%になるまでの時間である。

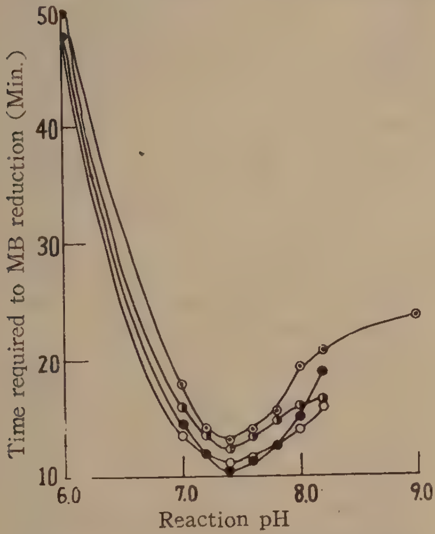



Fig. 1. Variation with reaction pH of acitivity of glutamic dehydrogenase of *Bac. subtilis* grown at various pH values. Shows that pH of optimum activity does not vary with growth pH

◑ Growth pH6.0 ● Growth pH7.0 ○ Growth pH8.0 ⦿ Growth pH9.0

Thunberg tube contained, M/50 glutamate 3cc, M/15 phosphate buffer 3cc and M/10,000 methylene blue 1cc in the reaction tube and 1cc of bacterial suspension (1.28mg. dry wt./cc) in the side cap.

Buffer solution: pH 6.0~8.3 phosphate buffer, pH 8.3~9.0 veronal buffer.

## 実験結果

**1. 細胞内酵素形成に及ぼす培地 pH の影響**

いろいろな培地 pH で発育した *B. subtilis* の glutamic dehydrogenase の活性度の反応pHによる変化を測定した結果を Fig. 1 に図示した。実験結果より酵素の至適pHは7.4であり，しかも至適pHは発育時の培地pHによつて影響を受けない事がわかる。

次に発育時の培地 pH に伴ふ *B. subtilis* の glutamic dehydrogenase の潜在活性度 (potential activity) と見掛け活性度 (effective activity) の変化を Fig. 2 に図示した。潜在活性度とは至適pHで測定した場合の methylene blue の脱色する時間を以て表はし，これは細胞内に於ける酵素の全成量を表はす。見掛け活性度とは細胞の発育する環境pHで測定した場合の methylene blue の脱色する時間を以て表はした。実験結果より潜在活性度は発育時の培地pHの如何に拘らず大体一定に保たれている事が解る。又見掛け活性度は発育時の培地 pH に依り影響され，アルカリ性培地よりも酸性培地に発育した場合にこの活性度は非常に減少している。

**2. 適応酵素か否か**

寒天斜面培地(pH7.0)に37°，18時間培養した菌体の菌浮遊液を用ひ，Warburg検圧装置の反応容器に$M/_{15}$燐酸 buffer液 (pH7.4) 3 cc,$M/_{5}$ glutamate 10cc 及び菌浮遊液 3cc (1.28mg. dry wt./cc)

を入れ，30°で12分間接触させた後，反応液を遠心分離，菌体を充分水洗した後，再び蒸溜水に懸濁させた菌浮遊液を用い前同様の方法で methylene blueの 脱色する時間を測定した結果を Fig. 3 図に示した。即ち反応pH7.4に於ては3分間で脱色された。

### 3. 食塩による影響及び食塩に対する適應性

（a） 普通 agar-agar 培地(食塩無添加)に発育した菌体を用い菌浮遊液を作り，Thunberg管の反応管に M/15 燐酸 buffer 液（pH7.4）3 cc, M/5 glutamate 液に20%になる様 NaCl を加えた基質液 3 cc 及び M/10000 methylene blue 1 cc を入れ，側室に前記菌浮遊液 1 cc を入れ前同様の方法で methylene blue が脱色される迄に要した時間を測定した結果，3時間経過しても methylene blue の色は殆んど変化たかつた。

（b） 普通 agar-agar 培地（食塩無添加）に発育した菌体を用い菌浮遊液を作り，Warburg 検圧装置の反応容器に燐酸 buffer 液（pH7.4）3 cc, M/5 glutamate 液に20%になる様 NaCl を加えた基質液 10cc 及び前記菌浮遊液 1 cc を入れ，30° にて3時間接触させた後，菌体を集め，充分水洗した後再び蒸溜水に懸濁させた菌浮遊液を用い，(a) の場合と同様の方法で methylene blue が脱色される迄に要した時間を測定した結果 2 時間経過後，僅かに透過率が大になつたにすぎたかつた。(反応開始時及び 2 時間後の 透過率は夫々 33% 及び 48% であつた)。

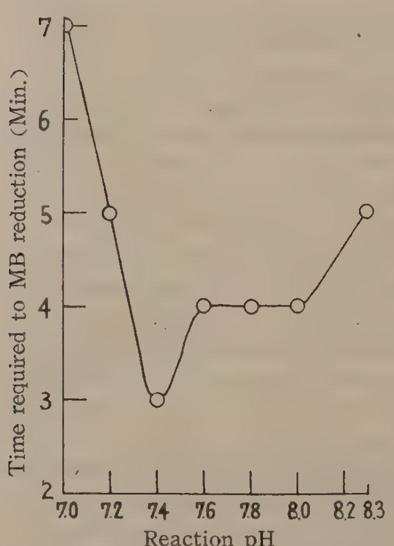



Fig. 3. Adaptability of glutamic dehydrogenase of *Bac. subtilis*
The pH of medium during growth was 7.0. The cells adapted with glutamic acid were prepared by the incubation of glutamate with intact cells at 30° for 12min., then the cells were washed with distilled water.

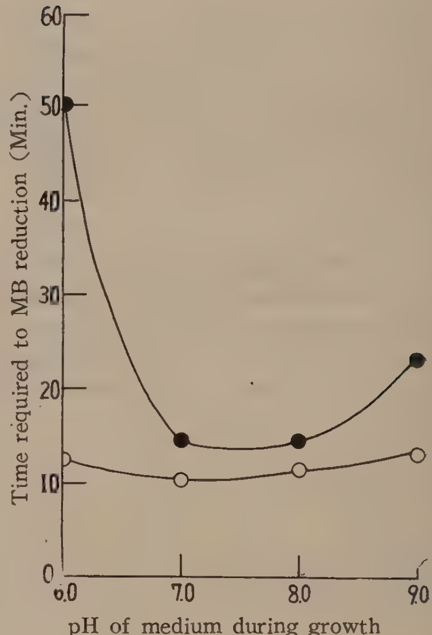



Fig. 2. Variation of potential activity and effective activity of glutamic dehydrogenase of *Bac. subtilis* with pH of medium during growth
Potential activity = time required to the moment of methylene blue reduction estimated at the optimal activity pH. Effective activity = time required to the moment of methylene blue reduction estimated at the pH of the environment in which the cell was grown.
○ Potential activiy ● Efffective activity
Buffer solution: pH 6.0～8.0 phosphate buffer, pH 9.0 veronal buffer.

（c） 肉エキス1％，ペプトン 1％，NaCl 15％，寒天 1.5％ 及び M/50 になる様 glutamate を添加した培養基に 37° にて 18時間培養後，発育した菌体を用い菌浮遊液を作り，（2）の場合と同様 glutamate に 30,° 12分接触，水洗した菌を使用し， Thunberg 管の反応管に燐酸 buffer 液 3 cc， M/50 glutamate 液（NaCl 無添加） 3 cc 及び methylene blue 1 cc を入れ，側室に前記菌浮遊液 1 cc を入れ，前同様の方法で methylene blue が脱色される迄に要した時間を測定した結果を Fig. 4 に図示した。

（d）（c）の場合と同じ培地に培養（37,° 18時間），この菌浮遊液を glutamate に 30,° 30分， 1 時間及び 2 時間接触，水洗した菌を使用し， Thunberg 管の反応管に燐酸 buffer 液 3 cc， M/50 glutamate（15％ NaCl 含有） 3 cc 及び methylene blue 1 cc を入れ，側室に前記 glutamate に接触させた菌浮遊液 1 cc を入れ前同様の方法で methylene blue が脱色される迄に要した時間を測定した結果，glutamate に30分，1 時間及び 2 時間接触させた菌浮遊液は測定開始後 2 時間経過しても methylene blue の色は殆んど変化なかつた。

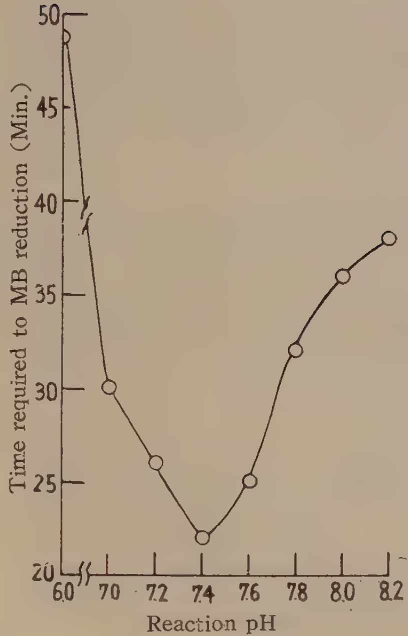



Fig. 4. Effects of the presence of sodium chloride during growth
Medium: 1％ meat extract, 1％ peptone, 15％ sodium chlordie, M/50 glutamate and 1.5％ agar. 18 hrs. culture at 37°., then these cells were adapted with glutamate with intact cells at 30° for 12 min., then the cells were washed twice with distilled water. Activity was estimated as usually.

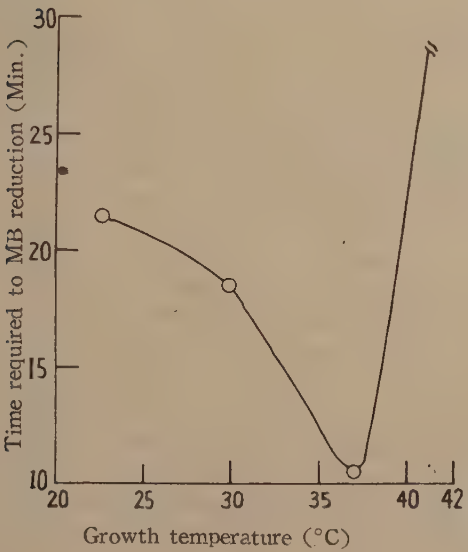



Fig. 5. Effects of growth temperatures on enzyme constitution
Medium: agar-agar, 18 hrs. culture

### 4. 細菌の発育温度及び培養時間が酵素形成に及ぼす影響

（a） 発育温度の影響，Agar-agar（pH7.0）に *B. subtilis* を接種，23°，30°，37° 及び 42° にて18時間培養し，常法により methylene blue の脱色に要した時間を測定した結果を Fig. 5 に図示した。基質中に NaCl を添加していない，尚 42° にて培養した菌体は発育状態悪く，培養基も軟かで，反応開始後 50 分経過しても methylene blue は脱色されなかつた（反応開始時及び 50 分後の透過率は夫々 33％ 及び 72％ であつた)。

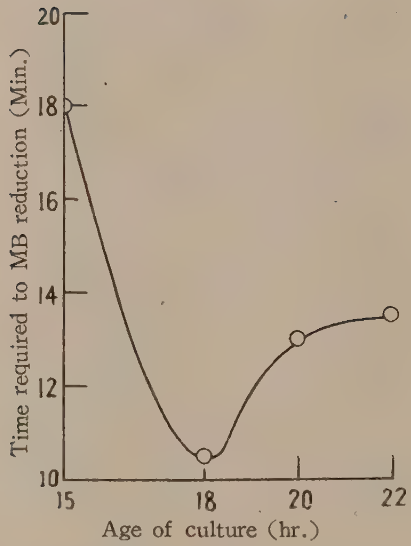



Fig. 6. Effects of the age of the culture on enzyme constitution
Medium: agar-agar, Culture temperature 37°

（b） 培養時間の影響

Agar-agar (pH7.0) に *B. subtilis* を接種，37°にて，15，18，20及び22時間培養し，常法によりmethylene blue の脱色に要した時間を測定した結果をFig. 6 に図示した。

## 考　　察

細菌細胞内での酵素形成は細胞形成の際の培地 pH の影響を著しく受けるが，酵素の型と機能によつて培地pHの効果が異なる，[3] その効果を類別すると次の三型に要約される。

（1） 中和機構。細菌は非常に広い範囲の pH をもつ培地中で発育出来る。それは細菌が外界の酸度やアルカリ度を中和し，内部環境を安定させる機能をもつているからである。例へば *Esch. coli* をアミノ酸を含む酸性培地で培養すると，或る種のアミノ酸を脱炭酸して$CO_2$を遊離し同時にアルカリ性のアミンを作る又アルカリ性で培養するとアミノ酸を脱アミノする酵素を作り$NH_3$を遊離し同時に酸性の生成物をつくるのである。

（2） 防禦機構。Catalase の様な酵素は蓄積すると細菌に毒性を示す代謝物質を分解する機能をもつている。

（3） 発育時の培地pHが酵素活性の至適pH にある時最も多くつくられる酵素で，この群に属する酵素は中和或は防禦のいずれの機能ももつていない。

Glutamic dehydrogenase は(3)のグループに属する酵素で Fig. 1 に図示した様にこの酵素の至適 pH は 7.4 であり，しかも至適pHは発育時の培地pHによつて影響を受けず又発育時の培地 pH が，酵素活性の至適 pH にある時に最も多くつくられている。細胞のもつ見掛け上の酵素構成は，その潜在的な酵素構成の一部で，細胞の発育条件即ち (1) 培地の化学的組成，（2）発育中の物理化学的条件，（3）培養の発育齢，によつて取捨選択される。

Thunberg 管による測定では酵素の量的形成を測定する事は困難である。Fig. 3 に図示した様に 30° で12分間基質と接触させる事によつて methylene blue の脱色に要する時間は½以上に短縮されたが，この事実のみで適応的に酵素が形成されたとは云へない。 Warburg 検圧装置を使用し，生細胞内で酵素が適応的に形成される様相を時間的に連続的に計測しなければならない。これは後に報告する予定である。

酵素生成に対する温度の影響は今迄殆んど研究されていない。 僅かに *Esch. coli* の或る菌株のアミノ酸脱炭酸酵素の生成が20～30°培養の方が 37°培養よりも多い。しかし *Esch. coli* の他の菌株及び *Clostridium welchii* では高温培養の方が低温培養よりも同酵素生成が多い事が知られている[4]。又 *Proteus vulgaris* によるアミノ酸々化酵素は，反応温度37°の方が24° よりも活性が高いにも拘らず，28° 培養の菌の方が酵素生成量が多いことが知られている程度である，[5] 著者の実験で *B. subtilis* の glutamic dehydrogenase 生成量は37°培養の菌が最も多かつた。又 Fig. 6 に図示した様に菌体の酵素量は培養の発育齢によつて変化する事がわかる。細胞の発育経過中における環境の物理化学的性質が，発育しつゝある細胞の物質代謝のはたらきによつて常に変り，細胞の酵素含量は，その酵素がつくられる時の環境に大部分支配される。著者の実験結果より，この酵素は発育中に次第につくられ，細胞分裂が停止する時期にその量は最大となる。発育が終つた後の活性は弱まるが，それは細胞が死滅して酵素蛋白質の酸化や消化などが起つたためと思われる。細菌

中の大部分の型の酵素は，培養経過とともに酵素活性もこの様な変化を示す様である。例へば脱アミノ酵素，脱炭酸酵素及脱水素酵素等である。又培養の発育齢とともに変りつゝある基質に対して示す細胞膜透過性に原因しているのかも知れない。近年の研究によれば，ふるい発育年齢の菌体には殆んど核酸様物質がないこと，lag phase の後期と log phase の初期に相当する発育相では，この物質が著明に増加するが，negative growth phase と maximum stationary phase にいたる間には，一様に減つてゆくことなどが明らかになつた。


## 要　約

細胞中の酵素生成は培地の化学的組成，発育中の物理化学的条件及び培養の発育齢によつて影響される。*B. subtilis* の glutamic dehydrogenase 生成に影響を及ぼす之等の条件について実験し次の結果を得た。

1. 至適pHは7.4であり，しかも至適pHは発育時の培地pHによつて影響を受けない。
2. 細菌発育時の培地に伴ふ酵素の潜在活性度（potential activity）と見掛け活性度（effective activity）の変化を測定した。潜在活性度は発育時の培地 pH の如何に拘らず大体一定に保たれ，見掛け活性度は発育時の培地pHにより影響される。
3. 基質溶液中に NaCl が存在すると酵素作用は阻害される。
4. 酵素生成量は37°培養の菌が最も多い。
5. 酵素は発育中に次第につくられ，細胞分裂が停止する時期にその量は最大となり，発育が終つた後の活性は弱まる。



終りに臨み，本研究に協力された川村義夫氏に感謝の意を表します。


## 引　用　文　献


（1） 長尾・木村（1951）. 北大水産彙報 **1**，81.

（2） 長尾　　　（1954）. 北大水産彙報 **5**，55.

（3） Gale, E. F. & Epps, H. M. R.（1942）. *Biochem. J.* **36**，600.

（4） Gale, E. F.（1943）. *Bact. Rev.* **7**，139.

（5） 佐々木・宇佐美（1952）. 酵素化学シンポジウム **7**，61.

# 塩辛の細菌学的研究

## 第10報 *Bacillus subtilis* のアミノ基転移酵素について

長尾　清
（北海道大学水産学部水産細菌学教室）

# Bacteriological Studies of Shiokara or "Soused Squid".

## 10. On the transaminases in *Bacillus subtilis*

Kiyoshi NAGAO
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

### Abstract

The occurrence and genearl importance of transaminases for the formation of amino acids has been variously discussed. The advent of paper chromatographic methods afforded an opportunity to clarify the knowledge of the occurrence of transaminases and their possible relationship to amino acid formation. This paper reports the results of studies on a series of transaminases present in *Bac. subtilis*, which was isolated from Shiokara.

1. The enzyme was prepared by treatment of intact cells with lysozyme and then dialyzed for 20 hrs. at 0° to get amino-acid-free enzyme.

2. Glutamic-oxalacetic transaminases have been demonstrated which produce glutamic acid from α-ketoglutaric acid with the following amino donors: aspartic acid, alanine, tyrosine, methionine, phenylalanine, valine and histidine, and, to a lesser degree, with lysine, arginine and leucine.

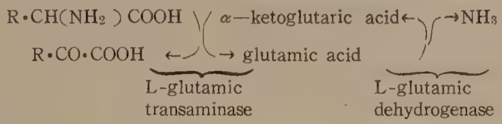
3. Glutamic-pyruvic transaminases have been demonstrated which produce alanine from pyruvic acid with the following amino donors: aspartic acid and glutamic acid.

著者は前に塩辛熟成中の旨味の原因は monoamino－N 量の増加に起因するであらうと述べたが，呈味の源と考えられるアミノ酸が細菌（塩辛の熟成に関与する細菌）の生細胞の内外でいかにして生成され或は代謝されて行くかと云ふ問題特に glutamic dehydrogenase と transaminase との関連について詳細に研究し，塩辛中の旨味の問題を解決し様と思ふ。前報[2] に glutamic dehydrogenase について報告した。本報はかゝる目的で transaminase について実験した結果を報告する。

近年に於ける生化学の最もめざましい進歩の一つは，ある種の原子団或は基がある分子から他の分子へ転移する反応を触媒する酵素が数多く存在するということで，この転移反応は生物学的系のエネルギー論，殊に生合成にとつて重要な役割をしている事が発見された事である。酵素によつて触媒的に転移されるものとしては1対の水素原子，グリコシド，ペプチド，アミノ基，イミノ基，アミヂン基，カルバミル基，メチル基チオール基，及びアセチル基等がある。こういう転移反応を触媒する酵素は転移酵素（transferring enzyme）と呼ばれる様になつてきた。

アミノ酸は生体内に於ては先ず脱アミノを受けるのが最も一般的な代謝経過である。脱アミノの方法には種々あるが，酸素を得てアミノ基を脱し α－ケト酸に移行する所謂酸化的脱アミノはその最も重要なものである。Braunstein 及び Bychkov [3] は多くのアミノ酸の酸化的脱アミノは，最初アミノ基が transaminase に

より α—ketoglutaric acid に移行し，生じた glutamic acid が脱水素酵素により脱アミノを受け間接的に脱アミノ系を形成するものであらうとの考えを提出した。Braunstein 等は transaminase, glutamic de hydrogenase, α—ketoglutaric acid からなる酵素模型を作り，これに L-alanine を加えると容易に脱アミノを受け $NH_3$ を放出する事を認めた。この際 α—ketoglutaric acid が alanine の脱アミノに触媒的に動く。更に Braunstein 及び Azarkh[4] は肝臓や腎臓組織中では α—ketoglutaric acid の添加によつて aspartic acid, leucine, valine 等の脱アミノが極めて促進される事を証明した。




しかしながらかゝる系が実際に生体でアミノ酸の脱アミノにどの程度に関与しているか，又 transaminase に関与する脱アミノ機構が実在するとしても，実際にどのアミノ酸がどの程度迄この機序で酸化されているかは直接知る事は出来ない。

最近 Feldman 及び Gunsalus[5] は *E. coli*, *Pseudomonas fluorescens* 及び *B. subtilis* の乾燥菌体を用ひ広範囲なアミノ基転移の起る事を証明した。著者が塩辛中より分離した *B. subtilis* が同様に極めて広範囲なアミノ基転移の起る事を知つた。以下著者の得た実験結果について報告する。

## 実　験　方　法

1. **酵素抽出法**　Agar-agar (pH7.0) に *B. subtilis* を接種，20時間，37° で培養し，発育した菌体を集め，水洗後，菌体を蒸溜水に懸濁し，(1.28mg. dry Wt./cc)，之に菌体の 1/1000 重量の lysozyme を添加，100分室温にて溶菌させた後，20時間氷で冷却しながら透析を行つた。透析後，扇風器で通風し透析液の容量を透析前と同じ容量になるまで濃縮した。この透析したものを酵素液とした。

2. **Lysozyme の調製法**[6]　Alderton 法に従ひ，卵白より結晶状に抽出した。

3. **α—ketoglutaric acid の調製法**[7]　Glucose 100g, $(NH_4)_2SO_4$ 1g, $KH_2PO_4$ 0.5g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1g, 蒸溜水1000cc 及び $CaCO_3$ 2.5% よりなる培地に *Pseudomonas fluorescens* 33F を接種，30° で培養後，醗酵液より α—ketoglutaric acid の結晶を得た。m.p. 112°, 2,4—dinitrophenylhydrazine 溶液を加えて得た hydrazone を paper chromatography を行つた結果，文献の Rf 値と一致した。

4. **Pyruvic acid**　市販品を使用した。

5. **アミノ基轉移の実験法**　試験管中に 1M 燐酸 buffer 液 (pH 7.3) 0.5cc, 0.1 M α—ketoglutaric acid 2.5cc (或は 0.1M pyruvic acid 2.5cc), 0.125M L—アミノ酸 1cc. と前記の方法によつて調製した酵素液 1cc を入れ，これを 37° の恒温水槽に 60分 incubate する。60分後 10% 三塩化醋酸 1cc を添加して反応を停止させる。この反応液を東洋濾紙 NO.50 に capillary pipette を用ひて滴下する。10%含水 phenol を溶媒として常法通り chromatography を行つた。呈色には ninhydrin の butanol 液を使用した。アミノ酸の確認には標準アミノ酸の Rf 値，色調及び其の他の色々な溶媒 (n—butanol, 15% 含水 cresol, butanol-pyridine-acetic acid-$H_2O$ の混液) を使用した場合の Rf 値及び色調から確認した。

## 実　験　結　果

Transaminase の助酵素は pyridoxal phosphate である。[8)9)10)] Feldman 及び Gunsalus[5] が実験した方法は菌体乾燥標本に pyridoxal phosphate, α—ketoglutaric acid 及びアミノ基供与体である各アミノ酸を加えた反応系でアミノ基転移の行われている事を証明している。著者は生菌浮遊液，α—ketoglutaric acid 及び各アミノ酸を加えた反応系ではアミノ基転移が行われなかつた。Pyridoxal phosphate は入手困難であつた為細胞内の酵素及び助酵素を活性の状態で細胞から抽出する事が第一に必要である。著者はこの為に lysozyme を加え溶菌し，細胞内の物質を活性の状態で抽出出来たが，この方法に依ると細胞内に遊離の状態

で存在していたアミノ酸がそのまゝ細胞外に出される為，酵素液自身の中にアミノ酸が存在し，アミノ基転移の実験を行うには不適当である。酵素液中のアミノ酸を除去する為に透析を行つたが，この場合助酵素である pyridoxal phcsphate も一緒に透析されてしまう恐れがあるので，アミノ酸が除去され，しかも pyridoxal phosphate が除かれない様に透析しなければならぬ。著者は菌体を lysozyme にて溶菌後，セロファン紙を用い，氷で冷却しながら30分，1時間，6時間及び20時間透析を行つた後，paper chromatography に依り酵素液中のアミノ酸を検出した処，20時間透析を行つた酵素液中にアミノ酸が検出されなかつたが，これより短時間の透析では酵素液中に微量のアミノ酸が検出された。20時間透析した酵素液を使用し，酵素液，α—ketoglutaric acid（或は pyruvic acid）及びアミノ基供与体である各アミノ酸を加えた反応系では Fig. 1，2，3及び4に図示した様に極めて広範囲なアミノ基転移の起る事が証明された。即ち著者の実験結果から酵素液，α—ketoglutaric acid 及び次の様なアミノ基供与体からなる反応系から glutamic acid が生成される事がわかつた（glutamic-oxalacetic transaminase)。アミノ基供与体として aspartic acid, alanine, tyrcsine, methionine, phenylalanine, valine. 及び histidine が作用する。lysine, arginine 及び leucine も関与するが其の作用は微弱であつた。又酵素液，pyruvic acid 及び次の様なアミノ基供与体からなる反応系から alanine が生成される事がわかつた (glutamic-pyruvic transaminuse)。この際アミノ基供与体として aspartic acid 及び glutamic acid が作用する。尚 Fig. 2に於て arginine, arginine＋α—ketoglutaric acid の chrcmatogram 上 Rf 0.35 及び 0.85 の spot は夫々 ornithine 及び proline である。

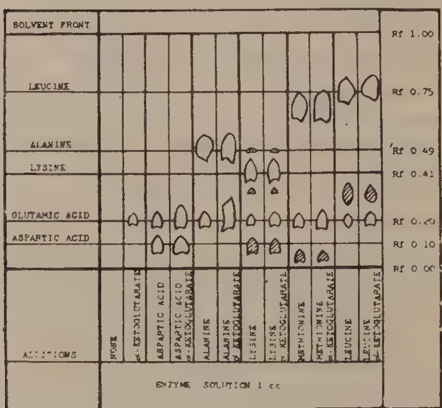



Fig. 1. Transaminases present in *Bac. subtilis*
The reaction mixture, incubated for 1 hr. at 37°, a mixture containing 1M phosphate buffer (pH7.3) 0.5cc, 0.1M α-Ketoglutaric acid 2.5cc, 0.125M L-amino acid 1cc and enzyme solution 1cc(1.23mg. dried cells/cc). The reaction was stopped by the addition of 1cc of 10 per cent trichloroacetic acid, and 0.02cc was transferred to Toyo No. 50 filter paper sheet. The amino acids were identified by paper chromatography, sprayed with ninhydrin (0.25mg. per cc of water-saturated butanol). Solvent, phenol (contained 10 per cent water). Unknown spot.

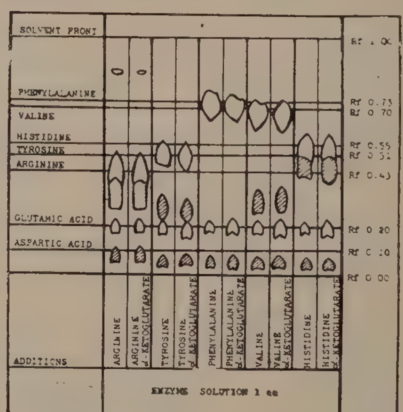



Fig. 2. Transaminases present in *Bac. subtilis*
Conditions as for fig. 1

## 考　　察

Adler,[11) 12)] Cohen [13] は酵母及び *E. coli* 等で glutamic acid, aspartic acid の反応を認めたが，Dicsfalusy [14] は *E. coli*, *Staph. mesentericus* で，又 Konikova は *B. brevis* でアミノ基転移を認め得なかつた。

Cohen は短時間嫌気的に実験した結果，glutamic acid⇄aspartic acid は各種細菌で盛に起るが，glutamic acid⇄alanine，aspartic acid⇄alanine は極めて弱いことを認めた。Housewright[15] は *B. subtilis* で glutamic acid⇄phenylalanine，glutamic acid⇄tyrosine の反応が起ると報告している。最近 Feldman 及び Gunsalus[5] は *E. coli*，*Pseudomonas fluorescens*，及び *B. subtilis* について α—ketoglutarate と次の様なアミノ基供与体である各アミノ酸の反応系から glutamic acid が生成される。即ちアミノ基供与体として aspartic acid, alanine, valine, leucine, norleucine, tryptophan, tyrosine, phenylalanine 及び methionine が関与し，isoleucine, histidine, lysine 及び threonine は微弱ながら作用する。又細菌の種類によりアミノ基供与体として関与するアミノ酸の種類が異なり又酵素量も異なると述べている。著者の実験結果でも極めて広範囲なアミノ基転移が起る事がわかつた。

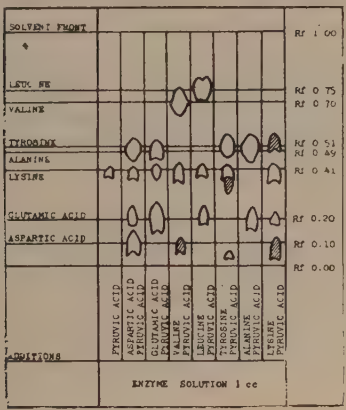



Fig. 3. Transaminases present in *Bac. subtilis*
The reaction mixture, incubated for 1 hr. at 37°, a mixture containig 1M phosphate buffer (pH7.3) 0.5cc, 0.1M pyruvic acid 2.5cc, 0.125M L-amino acid 1cc and enzyme solution 1cc (1.28mg. dried cells/cc). The reaction was stopped by the addion of 1cc of 10 per cent trichloroacetic acid. The amino acids were identified by the same procedure as fig. 1. ▨ Unknown spot.

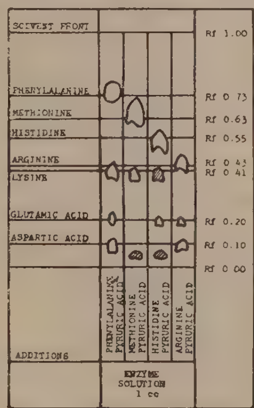



Fig. 4. Transaminases present in *Bac. subtilis*
Conditions as for fig. 3

もしも Braunstein の構想が正しければ，glutamic acid transaminase と共にそれに対応する dehydrogenase をも含んでいる組織の中で大量の L—アミノの脱アミノを起すためには，触媒的微量の α—ketoglutaric acid さえあれば十分であらう。Braunstein 自身は L-alanine が肝臓抽出液によつて glutamic acid の触媒的微量の存在下において酸化的に脱アミノされるということを示した。彼は glutamic acid と CoI 及び精製した L—glutamic dehydrogenase をある程度精製した glutamic acid transaminase の試料に加えることによつて alanine を脱アミノできる系を作ることができた。最近の研究からこの系が一般にアミノ酸の脱アミノに関係出来る事及び pyridoxal phosphate が助酵素の役割を果すことがはつきりした。L—amino acid oxidase 及びこの系との両者によつて，事実上天然にあるすべてのアミノ酸の脱アミノを説明する事が出来る。著者の使用した *B. subtilis* には上記の様に極めて広範囲のアミノ基転移が行われており又前報の如く glutamic dehydrogenase が存在し，更に又 L-glutamic acid oxidase が存在する*。

更に又重要な事はアミノ基転移の可逆性である。何となれば，それはアミノ酸の分解に与ると共に，非蛋

* 日本水産学会年会（1954年4月）にて発表

白質性の給源からのアミノ酸の合成に与る。アミノ基転移は可逆的過程であるから，適当な α—ケト酸が存在すれば，glutamic acid を使つて新らしいアミノ酸分子が合成され得る。少くとも三つのかゝる α—ケト酸が炭水化物代謝の過程中に出来て来る。それは即ち α—ketoglutaric acid, oxalacetic acid 及び pyruvic acid とである。glutamic acid は α—ketoglutaric acid から L—glutamic dehydrogenase の逆の作用で合成され，そして aspartic acid, alanine 等のアミノ酸が oxalacetic acid と pyruvic acid からアミノ基転移によつて合成される場合のアミノ基の供給者として働き得る。この様にアミノ基転移はその可逆性のために，窒素化合物の同化作用において異化作用におけると同様に基本的重要な役割を演ずることは疑いない。

植物体では光合成により固定された炭素鎖と根から吸収された窒素とからアミノ酸が合成されることは疑ふ余地がない。この際窒素同化の最初の有機物として酸性アミノ酸が出来ることが略々明かになつている。従つてこの場合にもアミノ基転移の反応と何等かの関係があるであらうことが予想される。

Hanes 及び Isherwood は，腎臓と肝臓の抽出物を用いて，glutathione と其の成分アミノ酸である glycine, cysteine 及び glutamic acid との間のアミノ酸転移の可能性を調べる実験を行ひ，消化物を chromatography でしらべ新らしい peptide の生成を示す spot を見出した。この peptide 転移反応は ペプチド連鎖構造中に於けるアミノ酸残基の再配列の機構を示し得るもので，蛋白質合成と密接に関連している事が判る。この様に転移反応は生物学的エネルギー論，ことに生合成にとつて基本的な重要性をもつものである。

## 要　　約


1. *B. subtilis* の菌体を lysozyme で溶菌し，0° で 20時間透析しアミノ酸を含まないアミノ基転移酵素を得た。

2. Glutamic-oxalacetic transaminase の反応系では aspartic acid, alanine, tyrosine, methionine, phenylalanine, valine 及び histidine がアミノ基供与体として作用した。Lysine, arginine 及び leucine も関与するが其の作用は微弱であつた。

3. Glutamic-pyruvic transaminase の反応系では aspartic acid 及び glutamic acid がアミノ基供与体として作用した。



終りに臨み *Pseudomonas fluorescens* SSF の菌株を御分譲下された，東大 坂口謹一郎教授，朝井勇宣教授に深甚なる謝意を表すると共に，本研究に協力された日野昭弘氏に感謝の意を表します。


## 引　用　文　献


(1) 長尾・木村 (1951). 北大水産彙報 1, 81.
(2) 長　尾 (1954). 北大水産彙報 5,
(3) Braunstein, A. E. & Bychkov, S. M. (1939). *Nature* 144, 351.
(4) Braunstein, A. E. & Azarkh, R. M. (1945). *J. Biol. Chem.* 157, 421.
(5) Feldman, L. I. & Gunsalus, I. C. (1950). *J. Biol. Chem.* 187, 821.
(6) Alderton, G. Ward, W. H. & Fevold, H. L. (1945). *J. Biol. Chem.* 157, 43.
(7) 朝井・相田 (1952). 日農化 26 523.
(8) Gunsalus, I. C. & Umbreit, W. W. (1945). *J. Biol. Chem.* 161, 313.
(9) Green, D. E. (1945). *J. Biol. Chem.* 161, 559.
(10) O' Kane, & Gunsalus, I. C. (1947). *J. Biol. Chem.* 170, 425.
(11) Adler, E., Hellström, H., Günther, G. & Euler, H. V. (1938). *Z. physiol. Chem.* 255, 14.
(12) Adler, E., Günther, G. & Everett, J. E. (1938). *Z. physiol. Chem.* 255, 27.
(13) Cohen, P. P. (1942). *A symposium on Respiratory Enzymes.* 210.
(14) Dicsfalusy, E. (1942). *Biochem. Z.* 313, 75.
(15) Housewright, Thorne, (1950). *Proc. Soc. Am. Bact.* 133.

# 魚粕乾留成分に関する研究—1

斎藤恒行・横山　彰・松岡芳隆
（北海道大学水産学部水産化学教室）

# Studies on Components in Dry Distillation Products of Some Fish-scrap (1)

Tsuneyuki SAITO, Akira YOKOYAMA and Yoshitaka MATSUOKA
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University.*

## Abstract

The antioxidant activities of dry distillates of fish-scrap were studied for Vitamin A in fish liver oil.

The results may be summarized as follows.

(1) Distillation product over 300°C, Fraction IV, was considerably effective.

(2) The components were separated from Fraction IV effectively by fractional distillation under reduced pressure. Among them, the highest boiling point distillate (at 440—470°C) was most effective and its activity was about 1/3 of that of hydroquinone.

(3) When Fraction IV was dissolved in ether and extracted with sulfuric acid and with alkali, sulfuric-aid-extracted material was most effective and its activity was about 1/3 of that of hydroquinone.

From the results of estimation of peroxide value the activity of sulfuric-acid-extracted material was found to be superior to that of N D G A.

## 緒　　論

魚粕乾留生成物に関する研究としては高岡・阿部[1]が北海道産鰊粕を乾留し，各種温度に於ける分留タールの酸性部，塩基性部，中性部の含有量及びタールの酸，アルカリに対する溶解度に就ての報告があるに過ぎない。動物性タールの抗酸化性に関する報告は未だ無いが大谷等[2]は木タールのビタミンA酸化防止力に就て報告し，木タール160°C迄の留分に於て100～120°Cの留分が鱈肝油に対し効力最も強しとしている。森・内藤[3]は280°C近辺の高沸点部に有効留分の存在を認め，有効留分を酸，アルカリで分離し苛性カリ抽出部即ちフエノール部が最も有効で hydroquinone の効力と大差無しと報告している。hydroquinone はその毒性の為実用化されていないが，Bickoff[4]を除き酸化防止力の強いものの一つである事は多数の研究者により認められている処であるので本研究に於ても屢々対照抗酸化剤として使用した。其他合成品の抗酸化性に関する研究は数多いが実用化されているものは少い。桜井・田辺[5]によると一価フエノールではcarvacrol, thymol が二価フエノールでは hydroquinone, thymo-hydroquinone が三価フエノールでは gallic acid ester が強力な効力を有し，勝井等[6]は hydroquinone NDGA, isoamylhydroquinone が NDGAに勝る事を報告している。Bittenbender[7]は glycerolmonogallate dipalmitate 及び glycerolmonogallate monofatty acid が効力あり生理的に無害であると報告している。天然物中の抗酸化剤としては tocopherol が古くより知られ $\alpha<\beta<\gamma$ の順に効力が大であり[8]，Moore[9]により $\alpha$ tocopherol が生体内に於てもビタミンAの破壊を防止する事が認められた。$\alpha$ tocopherol 及びNDGA は広く実用化されて居り近年に至り抗酸化剤の相乗作用が研究され，Gisvold等[10]は ascorbylpalmitate が NDGA の効力を強める事を報告している。最近田村等[11,12]

は数種の w, w′-bis-(3,4-dihydroxyphenyl) alkane 類を合成して NDGA と比較し，α, ζ—bis—(3,4—dihydroxyphenyl) butane が最も顕著な抗酸化性を有する事を報告している。又 α, ε—bis—(3,4—dihydroxy phenyl) propane 及び α, ζ-(3,4-dihydroxyphenyl) hexane も NDGAに勝る抗酸化性を有する事を明らかにしている。

## 実 験 之 部

著者等は北海道産鰊粕及び鰮粕を鉄製レトルト（一回の魚粕処理量約150g）により乾溜して得られるタールを試料とした。乾溜状態は毎回多少の差はあるが，魚粕の種類による差は認められず唯々溜出物の収量に差が認められた。之等溜出物を溜出状態により四つの fraction に分離した。第一表は魚粕150gを使用した乾溜生成物の収量及び溜出温度を示す。

Table 1. Outline appearance in dry distillation products of some fish-scrap

| Fraction | Herring-meal | | Sardine-meal | | Temperature (°C) |
|---|---|---|---|---|---|
| | Yield (g) | Yield to sample (%) | Yield (g) | Yield to sample (%) | |
| I | 14.0 | 9.3 | 17.0 | 11.3 | ～200 |
| II | 23.0 | 15.3 | 11.0 | 7.3 | 200～260 |
| III | 17.0 | 11.3 | 10.5 | 7.0 | 260～300 |
| IV | 20.0 | 13.3 | 16.5 | 11.0 | 300～ |

Fraction I ：黄色水溶液，アンモニア臭，腐敗臭
Fraction II ：黒褐色半流動性，刺戟臭強烈，結晶性物質析出
Fraction III ：黒褐色半流動性，刺戟臭，結晶性物質析出
Fraction IV ：黒褐色流動性，刺戟臭，結晶性物質少量析出

fraction II～IV に析出する白色結晶性物質は鰊粕に少く鰮粕に多い。該結晶は定性試験より炭酸アンモンにして，抗酸化力は negative である。

次に各溜分に析出する結晶を機械的に除き，水とエーテルで抽出し，残余の結晶其他水溶性物質を可及的除き，エーテル可溶性のタールのみを分取し，エーテルを蒸発乾燥して抗酸化試験を桜井変法[5,6]に準拠して行つた。使用肝油は鮫肝油19,100i.u. 実験温度60°C，対照抗酸剤として hydroquinone を用ひた。本実験より鰮粕及び鰊粕タールのエーテル可溶部は共に溜分IVが抗酸化性最も強く，タール 0.2% 添加では hydroquinone の T/ 1.8に対し溜分IVは鰮粕，鰊粕共に1.2を示し，魚種による効力の差は認められなかつた。又タール0.5%添加では共に1.5を示した。

上述の如く魚種による効力の差は認められず又鰮粕試料少量の為，以後鰊粕タールに就てのみ実験を行つた。

上記実験より溜分IVが比較的抗酸化性を示す事を認めたので，更に鰊粕タール溜分IVに就て実験を進めた即ち鰊粕1.5kgを乾溜して溜分 IV190g を得た。之を減圧蒸溜（沸点80～470°C13mmHg）により溜出物の性状によつて七つの fraction に分離し，抗酸化試験[10]を行つた。その結果0.2%添加では hydroquinoneの T/t 1.8に対し溜分 7（沸点440～470°C13mmHg，収量：9g，原タールに対する収量：47.4%）は1.5を示す。即ち前回の鰊粕溜分IV0.5%添加の効力と溜分7 0.2%が一致する事から，分溜により相当抗酸化性の高まつた事を認めた。

ついで鰊粕タール溜分IV及び之を分溜して得られる溜分 7 の添加肝油に就きビタミンA破壊状態を Beckmann spectrophotometer により，之と併行して肝油に対する抗酸化性を Wheeler法[11]の Peroxide value によつて測定した。使用せる肝油は鮫肝油27,500i.u，実験温度50°C，対照抗酸化剤として hydroquinone及

び市販NDGAを用ひた。この結果は第二表に示す如くである。

Table 2. Relations between the destruction of Vitamin A and the increase of peroxide value by addition of dry distillation products to shark liver oil

| Kinds of sample and its addition (%) \ Days, V.A., P.V. | Initial | | After 5 days | | After 10 days | | After 15 days | | V. A. Reduced ratio (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | V.A. (i.u.) | P.V. | V.A. (i.u.) | P.V. | V.A. (i.u.) | P.V. | V.A. (i.u.) | P.V. | |
| Control (liver oil alone) | 27,500 | 19.9 | 3,490 | 65.0 | 3,410 | 68.0 | 3,130 | 71.5 | 88.6 |
| N D G A 0.2 | 25,000 | 17.5 | 19,200 | 24.3 | 9,180 | 39.6 | 2,870 | 60.9 | 88.5 |
| Hydroquinone 0.2 | 25,000 | 19.5 | 21,000 | 18.5 | 16,200 | 17.9 | 13,900 | 19.3 | 44.4 |
| Fraction Ⅳ 0.2 | 25,000 | 22.6 | 10,800 | 33.0 | 3,930 | 43.5 | 3,940 | 61.4 | 84.2 |
| Fraction Ⅳ 0.5 | 25,000 | 19.4 | 15,200 | 19.8 | 6,080 | 23.0 | 4,700 | 45.8 | 81.2 |
| Fraction 7 0.2 | 25,000 | 20.9 | 1,9004 | 29.9 | 4,640 | 42.4 | 4,000 | 52.6 | 84.0 |

V.A.：Vitamin A　　P.V.：Peroxide value, millimoles per Kg of oil

各試料は表記添加量の10倍量を添加し，120°Cに10時間加温し，完全に溶解させた。留分Ⅳ及び7は加温後30分で完全に溶解した。無添加肝油は温度処理をせず，以上の如くにして調製せる試料を夫々真空デシケーターに一夜放置後50°Cに調節してビタミンA，Peroxide value を測定した。

第2表の如く留分Ⅳ及び7のビタミンA抗酸化性が認められた。その酸化防止力は hydroquinone には及ばないが，NDGAより稍々弱く，5日目に於ける留分Ⅳの0.5%添加と留分7の0.2%添加の効力は15日目に於ける hydroquinone の0.2%の効力と略々一致す。即ち留分7は hydroquinone の⅓程度の効力と思はれる。又0.5%添加の留分Ⅳは肝油に対する抗酸化性が NDGA より秀れている事が判る。ビタミンA減少状態と Peroxide value 増加との関係は無添加の時にのみ比例的で，抗酸化剤添加の場合は全く比例的関係は見られない。hydroquinone 添加の場合はビタミンAの減少にかゝはらず Peroxide value は寧ろ減少の傾向にある。

以上の結果は桜井変法[5][6]による予備試験と略々一致している。

次に有効留分の酸，アルカリによる分離を留分7に就て行ふべきであつたが，試料の関係上留分Ⅳに就て分離を試みた。

留分Ⅳ150gを同量の温湯にて洗滌し，炭酸アンモン其他水溶性物質を除去後，同量のエーテルに溶解し，之を10%$Na_2CO_3$溶液で数回振盪抽出す。抽出液に氷片を入れ，$H_2SO_4$にて酸性後 NaCl で塩析，析出せるタールをエーテルで分取し，sat. NaCl水で洗滌後エーテルを無水芒硝で脱水し，エーテル除去して得られるタールを**炭酸ソーダ抽出部**とする。$Na_2CO_3$ 不溶部分は 10%KOH で振盪抽出し，**苛性カリ抽出部**を得，KOH 不溶解部分は10%$H_2SO_4$で振盪抽出し，**硫酸抽出部**を得，以上三部を完全に抽出せる残液のエーテルを除去して**中性部**を得る。

炭酸ソーダ抽出部：酸性物質，褐色高粘性，芳香性。
苛性カリ抽出部　：フェノール性物質，黒褐色非流動性，クレゾール臭。
硫酸抽出部　　　：塩基性物質，暗赤褐色高粘性，飴状物質，苦味。
中性部　　　　　：アルデヒド，ケトン，酸エステル，黒褐色非粘性，悪臭。

中性部は粘性を有しない臭気ある液体にして分別前の臭気は殆んどこの部分に移行せるものの如し。之等各部の成分に就ては目下検索中である。

この四つの留分を桜井変法,[5][6] Beckmann spectrophotometer によるビタミンA測定，Wheeler法[13]による Peroxide value の測定結果から硫酸抽出部（収量：11.0g，原タールに対する収量：7.3%）が最も効

力が強く前回の留分7同様 hydroquinone の⅓程度の効力を示した。Peroxide value の増加状態は硫酸抽出部が留分7よりもビタミンAの減少に比し著しく増加を防止した。

尚硫酸抽出部のアルコール稀薄溶液をフェノールを展開剤としてペーパークロマトグラフを行つた処 ninhydrin 反応陽性の四つの spots が得られた。之は乾留に際し遊離になつたアミノ酸或はその decarboxylation により生じたアミン類がタール中に混在した為と考へられる。之に就ては目下研究中である

更に抗酸化性を示す硫酸抽出部5gを精製する目的で第一図[4]に示す装置で Air bathにより分留を行つた分留に際し bumping 防止の為，Glass wool をタールに浸漬して行つた。蒸留残査はクロロホルムにて抽出後，溶剤を蒸発して回収した。第三表はこの結果を示す。

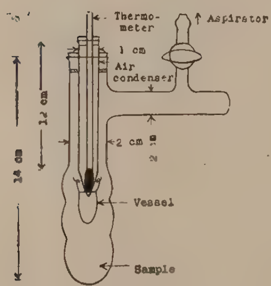



Fig. 1. Microdistillation apparatus by air bath

Table 3. Appearance in the extracted fraction of sulfuric acid by microdistillation

| Fraction | Distillation (°C) temperature | | Yield (g) |
|---|---|---|---|
| | Bath temperature | Inside temperature of cooler | |
| A | 140 ～ 200 | 40 ～ 120 | 1.0 |
| B | 200 ～ 260 | 120 ～ 155 | 2.2 |
| C | 260 ～ 320 | 155 ～ 200 | 0.5 |
| D | Residue | | 1.0 |

この蒸留によつて分留前の悪臭は殆んど消失した。各留分の抗酸化性を桜井[5,6]変法で測定した結果，タール0.2%添加では留分Aは$^{T}/_{t}$0.8で却つて酸化を促進し，留分Bは1.2を示し，留分C及びDは1.9 で分留前より稍々効力が強い。之は tocopherol の場合添加量 0.03～0.1% が適量でそれ以上になると酸化を促進すると Bailey等[15]が言つている如く，或程度純化された分留タールの添加量が多過ぎ満足な結果が得られなかつたものと考へられる。之に就ては Beckmann spectrophotometer による本試験によつて確めたいと考へている。然し乍ら硫酸抽出部の高沸点部に有効成分の存在する事は認められた。

## 要　　約

魚粕乾留タールに就き，肝油中のビタミンAに対する抗酸化性を追究した結果

(1) 乾留温度300°C以上の留分が比較的効力を示す。

(2) 次に300°C 以上の留分を減圧蒸留して得られる最高沸点部440～470°Cが最も強く hydroquinone の⅓程度の効力を示した。

(3) 更に該留分をエーテルに溶解し酸，アルカリによる分離を行つて得られる硫酸抽出部が最も効力が強く hydroquinone の⅓程度の効力を示した。又 Peroxide value の結果から硫酸抽出部は肝油に対する抗酸化性が相当強く，NDGAより遙かに強力で hydroquinone に稍々劣る程度で短期間内では hydroquinoneより強力な結果を示した。

(4) 硫酸抽出部の260°C以上の高沸点部に有効成分が存在する事が認められた。

終りに当り Beckmann spectrophotometer によるビタミンA測定に対し種々御便宜を賜つた北海道油脂協会の各位に厚く感謝致します。

## 文　　献

(1) 高岡・阿部 (1943). 日水誌 11, 188.
(2) 大谷・安藤・薄井 (1933). 日水誌 7, 217.

(3) 森・内藤 (1951). 食糧栄養学会誌 **4**, 179.
(4) Bickoff (1951). *J. Am. Oil. Chem. Soc.* **28**, 65.
(5) 桜井・田辺 (1947). 薬学 **1**, 88.
(6) 勝井・久山 (1952). ビタミン **5**, 33.
(7) Bittenbender (1950). *Com. Fish. Rev.* **12**, (2), 1.
(8) Olcott & Emersone (1933). *J. Am. Chem. Soc.* **56**, 1008.
(9) Moore (1940). *Biochem. J.* **34**, 1321.
(10) Gisvold & Rogers (1948). *J. Am. Pharm. Assoc.* **37**, 232.
(11) 田村・大熊 (1954). 農化 **28**, 1.
(12) 田村・大熊・大久保 (1954). 農化 **28**, 24.
(13) Wheeler (1932). *Oil and Soap.* **9**, 89; *C. A.* **26**, 3128.
(14) 高木 (1948). 薬誌 **68**, 118.
(15) Oliver & Bailey (1944). *Oil and Soap.* **21**, 188.

# 大腸菌群の水産食品中に於ける分布の研究

## 第2報　函館近海に於て漁獲されるスルメイカに於ける腸球菌の分布について

谷　川　英　一・小　山　　光

（北海道大学水産学部水産食品製造学教室）

# Studies on the Coli-Group Distributed in Marine Foods

## II. *Enterococci* in squid (*Ommastrephes sloani pacificus*) caught in the sea near Hakodate

Eiichi TANIKAWA and Akira OYAMA

*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

### Abstract

The authors have first examined whether the Most Probable Number of *Enterococci* in surface and viscera of squid may be give some indication of the contamination by human faecal, or wheter the using jointly of M. P. N. of coli-score and *Enterococci* may more accurately show the contamination than the using of M. P. N. of coli-score only. As a consequence, the authors have ascertained that the use jointly of M. P. N. of coli-score and M. P. N. of *Enterococci* is favourable for learning accurately the degree of the contamination.

Then the authors have studied the M. P. N. of *Enterococci* (a) in squid before landing at several landing places in Hakodate Harbour and (b) in squid which was bought at several stores in Hakodate City. M. P. N. of *Enterococci* was determined by Mallmann and Seligmann's method by using azide dextrose broth and by employing the Hoskins' table. Following results were obtained.

(1) On the surface skin and in viscera (mainly intestines) of squid before and after landing, the presence of *Enterococci* was recognized.

(2) The number of organisms of *Enterococci* on the surface skin of squid is larger than the number in viscera of squid in both cases, before and after landing.

(3) After landing, the number of *Enterococci* has increased over that found before landing. This may be due to the contamination by washing squi dusing sea-water near the landing places after landing, or by handling of fish dealer, or by contacting with soil.

(4) In fact, there are many organisms of *Enterococci* in the sea water near the landing places, and the most of them were *Enterococci* of human origin. It must be forbidden to wash squid with the sea water.

(5) The authors will assert repeatedly as in the previous report that consumers must always wash squid meat sufficiently and very carefully with city service water, when they wish to eat it as sliced raw meat.

魚介類は我国において常食に次いで供されるものであり，特に魚種によつては好んで生食，即ち刺身等として食べられる。生食の場合には腸チフス菌，赤痢菌等の如き消化器系統の病原菌による汚染が考えられ

る。これら消化器系統の病原菌の検出指標菌として大腸菌属の検出が唯一のものとされておつた[1]。これは大腸菌属がその検出法最も簡便な為である。然るに最近米国においては日本よりの冷凍輸入食品に対して汚染の指標として大腸菌属の他に腸球菌の検出をも併せ行い，その汚染の程度を一層正確に知ろうと企図して居る。

自然界における腸球菌（主として連鎖状球菌）の分布状態を決定した研究は少なく，Bergey's Determinative Bacteriology [2]によると一般に腸球菌は人間及び温血動物の腸管に由来する事が記載されて居り，又Shermann氏（1937),[1] Ostrolenk 及び Hunter（1946）両氏[5]等の研究によつてもこの事が証明されている。尚下水，汚物で汚染された水の中，不衛生な水泳プール中にも *Streptococci* の存在が認められたが[3]これらは多くは人間，動物の糞便から由来したこと[1]が報告されている。

腸球菌は人間，動物の糞便中において *Escherichia coli* の⅒を超えないが,[4] 少数だからと云つて糞便中の腸球菌の有する衛生学的意義を何等減少せしめるものでなく,[1] 化学試験，及び他の環境要因に対する抵抗性は人間，動物の糞便による汚染の指標として重要であり,[5] 汚染の，より正確な指標となり得る事が述べられている,[1] 著者等は本研究において先ず大腸菌属検出法に併行して腸球菌の量を以て魚介類の汚染の程度を知り得るか否か，腸球菌の検出法の吟味，等の目的を以て函館近海において漁獲されるスルメイカの表皮，内臓についてその分布をみた。函館近海において漁獲されるスルメイカの大腸菌群最確数については既に第1報[6]において報告しており，こゝに腸球菌の検出によつて更にその正確を期さんとしたものである。

## I. 大腸菌群検出と腸球菌検出による汚染度の指標としての比較

従来用いられて来た大腸菌群の指数と腸球菌の指数とが同一試料について同様の傾向を示すものであれば，汚染度の指標として腸球菌の指数を併用する事も意義のある事である。こゝでは両者の指数の傾向をみる為に本実験を行つた。

### 1. 培養基と試験法

大腸菌群検出法は American Public Health Association Method [7]により乳糖添加肉汁培養基，Brilliant Green 添加乳糖肉汁（B. G. L. G.），遠藤氏培養基等を用い，推定，確定，完全試験を経てその最確数（M. P. N.）を得た。

腸球菌の検出法については水中の連鎖状球菌を分離する為に多くの培養基が報告されている[3] 尚 Mallmann 及び Seligmann（1950）両氏は Lactose broth, Azide broth, S. F. broth, Azide dextrose broth により，川水を試料として *Streptococci* の指数をみたが，その対数平均は Lactose broth では 930，Azide broth では 3,700，S. F. broth では 690，Azide dextrose broth では 9,200 なる事をみている。而して Azide dextrose broth は *Streptococci* の量的測定に対して最上の好適培養基である事を報告している。Azide dextrose broth は 0.02% の Sodium azide を添加する事によつて腸球菌に対して栄養をより多く与え，同時にグラム陰性の細菌の繁殖を抑制する為に作られたものである。[3] 著者等は Roth [3] 氏により推奨された Azide dextrose broth を使用したが，その組成は Tryptose 1.5%，Beef extract 0.45%，Dextrose 1.5%，Sodium chloride 1.5%，Sodium azide 0.02%であつて，その基質の pHを 7.2とした。
この Azide dextrose broth を用い Mallmann 及び Seligmann 氏等の方法によつて推定，確定試験を行つた。即ち推定試験は大腸菌群検出時と同様試料 1 g を十進稀釈法で稀釈したものを 1 cc 宛 Azide dextrose broth に移植して37°Cに48時間培養して酸の生成状態をみる。更に確定試験は酸を生成した培養液を他の試験管に移し，沈澱の部分をスライドガラス上に塗沫し，グラム染色し，連鎖状球菌が見られたならばその試験管は陽性とし，その陽性の試験管数によつて大腸菌群の最確数の表によつて指数を求めた。

### 2. 実験結果

大腸菌群最確数及び腸球菌の最確数をヤリイカ内臓，スルメイカ内臓，飲料水，海水等について検査した。その結果は第1表の如くである。

Table 1. Number of acid producing tubes which were added with the samples of squid meat, which were not yet landed, in the azide dextrose broth

| samlpe \ dilution | | 1 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/100,000 | M.P.N./g |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Loligo bleederi* viscera | *Coli*-group | | | | 2 | 3 | 4 | 2,200 |
| | *Enterococci* | | | 4 | 0 | 0 | | 130 |
| *Ommastrephes sloani pacificus* viscera | *Coli*-group | | | 2 | 2 | 0 | | 930 |
| | *Enterococci* | | | 5 | 0 | 0 | | 230 |
| Drinking water | *Coli*-group | | 4 | 2 | 1 | | | 26 |
| | *Enterococci* | | 0 | 0 | 0 | | | 0 |
| Sea water | *Coli*-group | 5 | 5 | 2 | | | | 54 |
| | *Enterococci* | 5 | 2 | 0 | | | | 5 |

以上の4試料についての比較によれば大腸菌群最確数に比し，腸球菌の最確数は少なくなつており，大腸菌群の最確数の少いものは腸球菌最確数も亦少くなつている。大体両者は平行して増減するものと思われる。従つて従来の大腸菌群の最確数検定の他に腸球菌最確数を検定する事も有意義の事と思われる。

## II．函館近海で漁獲されるスルメイカに於ける腸球菌の検出について

第1報[6]において筆者の一人，谷川は国沢，阿部と共に函館近海で漁獲されるスルメイカについて大腸菌群の最確数を検査したが，イカの表皮，内臓共に大腸菌属の存在することを認め，陸揚げ前の表皮には大程多数の大腸菌属はみられなかつた。而して特に内臓にあるものは所謂魚型大腸菌[8]と認められるものが大部分であつた。陸揚げ後のイカの表皮における大腸菌群の最確数の増加は明らかに人型大腸菌の増加によることがみられ，これは恐らく陸揚げ後の船着場附近の海水の使用によるものと考えた。本実験においては主として函館港内で陸揚げされるイカ及び魚店舗に出されたイカにつき腸球菌最確数による汚染度を知らんとした。

1．実　験　法

（1）イカ原料の採取法

函館港内に着船したイカ釣船よりの採取及び市内魚店舗における試料採取法は第1報[6]と同じ方法によつた。

（2）試料の調製法

陸揚げ地区 A, B, C, D, E, F 並びに魚店舗所在地区 G, H, I, J, K, L 各地区より抽出した各4尾のスルメイカの内臓及び表皮を各 1 g 宛取り，無菌箱内で擂潰し，これを生理的食塩水で十進法により稀釈し，試料とし，Azide dextrose broth に接種した。

（3）培養法と表示法

Azide dextrose broth に接種したものは37°C で48時間培養し，その酸生成結果及び外観（溷濁，沈澱）からみて，基質の pH が4.2〜4.4のものは卄，又は＋とした。この中卄は溷濁せるもの，＋は透明のもので，鏡検すれば何れも球菌の存在を認め得るものである。又 pH 6.0附近のものは±，pH 6.4附近のものは干，pH 7.2 附近のものは〒として示した。尚〒は48時間培養では発育不十分で72時間培養を要するもので

あり，更に培養時間を延長すれば＋又は⧺になる可能性もある。例えば推定試験における48時間培養において⩲を示したものが更に24時間の培養時間の延長により，⧺になつたもの40.4%，＋になつたもの27.7%±になつたもの6.4%，∓になつたもの2.1%，全然変化しなかつたもの23.4%，と云う割合を示し，大部分のものは⧺又は＋に移行している。又全然pHの無変化のもので透明のものは鏡検によつても腸球菌の存在が認められないので－として示した。

推定試験においてこれらの表示法によつて⧺及び＋を腸球菌検出陽性とし±，∓，及び⩲は擬陽性とし－は陰性とした。但し擬陽性の中，培養時間を24時間延長して陽性になつたもの及び完全試験においてグラム染色してグラム陽性の球菌が2ケ以上連鎖しているのを認めた時はこれを陽性として数えた。これら陽性の数を各稀釈について記載した。

2. 実　験　結　果

(1) 陸揚げ前のスルメイカに分布せる腸球菌最確数について

Table 2. Number of acid producing tubes which were added with the samples of squid meat which were not yet landed, in the azide dextrose broth

| Districts | Part | Sample No. 1 | | | | Sample No. 2 | | | | Sample No. 3 | | | | Sample No. 4 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 |
| A | Surface skin | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 5 | 5 | 1 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| | Viscera | 5 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| B | Surface skin | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 | 5 | 5 | 1 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| | Viscera | 5 | 5 | 0 | 0 | 1 | 5 | 5 | 0 | 4 | 5 | 3 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 |
| C | Surface skin | 5 | 3 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 | 5 | 5 | 2 | 0 |
| | Viscera | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 5 | 2 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 5 | 3 | 2 | 0 |
| D | Surface skin | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 4 | 0 | 0 |
| | Viscera | 1 | 2 | 0 | 0 | 5 | 3 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 |
| E | Surface skin | 4 | 1 | 1 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 |
| | Viscera | 5 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| F | Surface skin | 5 | 5 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 | 5 | 5 | 5 | 2 | 5 | 5 | 5 | 0 |
| | Viscera | 5 | 3 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 5 | 4 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 |

実験結果は第2表の如くであつて同表の数値よりこれを1g当りの腸球菌最確数をもつて表わすと第3表及び第1図の如くである。

第3表及び第1図よりみるに，腸球菌最確数は表皮においてはその存在が認められなかつたものは一つもなく，すべての試料に認められた。その最確数は各々の試料によつて差が大きい。内臓についても略々同様であつて，試料による差は表皮程大ではないが，試料の中には全然認められないものもあつた。又内臓と表皮とを比べると表皮の方が腸球菌の数が大きい。

最確数表より得た上記数値の平均値を1gについて求めると，表皮の場合は，

$\bar{X}=\frac{213+164+235+42+97+267}{6}=\frac{1018}{6}=169.7$ 即ち1gにつき約170ケの腸球菌が存在する事が推定される。又内臓の場合は $\bar{X}=\frac{35+94+57+67+42+62}{6}=\frac{357}{6}=59.5$ 即ち内臓中には1gにつき約60ケの腸球菌が存在することが推定される。併し上記の実験において得られた数値は試料により最確数の差が大であり，陸揚げ前のイカ原料を各一括した試料群の代表値とすること，即ちイカ原料全体の腸球菌の分布として推察する事は困難であるが，大体の傾向は察知する事が出来る。

Table 3. M. P. N. of *Enterococci* in surface skin and viscera of squid which was not yet landed (per g)

| Districts | Part | Sample No. 1 | Sample No. 2 | Sample No. 3 | Sample No. 4 | Average |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | Surface skin | 23 | 240 | 350 | 240 | 213 |
| | Viscera | 23 | 33 | 79 | 45 | 35 |
| B | Surface skin | 17 | 49 | 350 | 240 | 164 |
| | Viscera | 240 | 24 | 64 | 49 | 94 |
| C | Surface skin | 79 | 240 | 79 | 540 | 235 |
| | Viscera | 0 | 56 | 33 | 140 | 57 |
| D | Surface skin | 4 | 15 | 18 | 130 | 42 |
| | Viscrea | 61 | 180 | 2 | 79 | 67 |
| E | Surface skin | 21 | 49 | 79 | 240 | 97 |
| | Viscera | 49 | 45 | 79 | 33 | 42 |
| F | Surface skin | 240 | 49 | 540 | 240 | 267 |
| | Viscera | 79 | 33 | 130 | 68 | 62 |

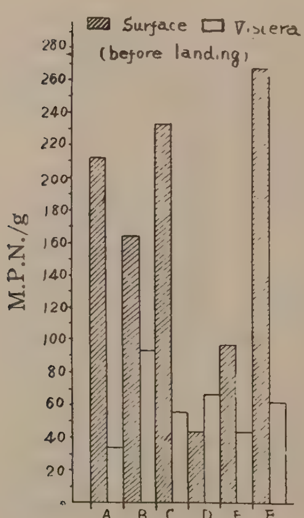


Fig. 1

(2) 陸揚げ後のスルメイカに分布せる腸球菌最確数について

次に陸揚げ後即ち函館市内を6地区に分けた各地区内の2ケ宛の魚店舗より2尾宛採取購入したスルメイカの表皮及び内臓をAzide dextrose broth に接種した酸生成試験管数及びそれより算出せる腸球菌最確数は夫々第4表，第5表及び第2図の如くである。

第5表の中，表皮及び内臓の腸球菌の最確数の平均値を夫々求めると，表皮の場合は，$\overline{X}=\frac{562+117+1518+332+1434+1183}{6}$ =866 即ち表皮 1g 当り 866ケ の腸球菌の存在が推定される。

又内臓の場合は，$\overline{X}=\frac{33+57+290+122+323+263}{6}=181.3$ 即ち内臓1g当り181ケの腸球菌の存在が推定される。

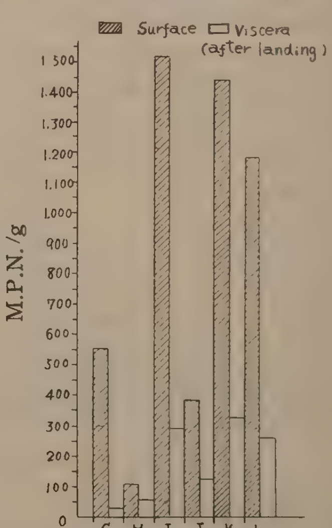


Fig. 2

陸揚げ後のスルメイカの表皮及び内臓についても夫々の各試料

Table 4. Number of acid producing tubes which were added with the samples of squid meat, which were landed, in the azide dextrose broth

| Districts | Part | Sample No. 1 | | | | Sample No. 2 | | | | Sample No. 3 | | | | Sample No. 4 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 | 1/10 | 1/100 | 1/1,000 | 1/10,000 |
| G | Surface skin | 5 | 2 | 1 | 0 | 5 | 2 | 0 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 |
| | Viscera | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 2 | 0 | 0 |
| H | Surface skin | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 | 0 | 0 | 0 |
| | Viscera | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 |
| I | Surface skin | 3 | 3 | 0 | 0 | 5 | 4 | 0 | 0 | 5 | 5 | 0 | 0 | 5 | 4 | 2 | 0 |
| | Viscera | 5 | 1 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| J | Surface skin | 4 | 2 | 0 | 0 | 5 | 5 | 3 | 1 | 3 | 0 | 0 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 |
| | Viscera | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 5 | 1 | 0 | 0 |
| K | Surface skin | 5 | 5 | 5 | 1 | 5 | 5 | 4 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 5 | 2 | 0 | 0 |
| | Viscera | 5 | 1 | 0 | 0 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 |
| L | Surface skin | 5 | 4 | 1 | 0 | 5 | 3 | 0 | 0 | 4 | 4 | 3 | 0 | 5 | 4 | 1 | 0 |
| | Viscera | 5 | 3 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 0 | 4 | 0 | 0 | 0 |

Table 5. M. P. N. of *Enterococci* in surface and viscera of squid which was landed (per g)

| Districts | Part | Sample No. 1 | Sample No. 2 | Sample No. 3 | Sample No. 4 | Average |
|---|---|---|---|---|---|---|
| G | Surface skin | 700 | 680 | 78 | 790 | 572 |
| | Viscera | 20 | 20 | 78 | 14 | 33 |
| H | Surface skin | 0 | 68 | 170 | 230 | 117 |
| | Viscera | 20 | 110 | 20 | 78 | 57 |
| I | Surface skin | 170 | 1,300 | 2,400 | 2,200 | 1,518 |
| | Viscera | 330 | 300 | 170 | 330 | 290 |
| J | Surface skin | 220 | 1,100 | 78 | 130 | 382 |
| | Viscera | 0 | 78 | 78 | 330 | 122 |
| K | Surface skin | 3,500 | 1,700 | 45 | 490 | 1,434 |
| | Viscera | 330 | 170 | 0 | 790 | 323 |
| L | Surface skin | 1,700 | 790 | 540 | 1,700 | 1,183 |
| | Viscera | 796 | 40 | 91 | 130 | 263 |

の最確数に大なる差異があり，この値をもつて直ちに函館市内全魚店舗における腸球菌の分布数とする事は早計であるが，夫々の傾向をみる事は出来る。即ち腸球菌最確数は陸揚げ前と同様陸揚げ後も表皮の方が内臓よりも大であり，しかも表皮，内臓共に腸球菌の最確数は陸揚げ後は陸揚げ前より大である。こゝで興味ある事はH地区より抽出された試料に腸球菌の最確数の少い事である。これは同地区に市立保健所があり，業者の衛生知識が普及されている結果と思われる。

(3) 海水中の腸球菌の検出

漁獲されたスルメイカは陸揚げ後海水で洗滌されることが多いので，海水中の腸球菌をも検出しておく必

要がある。海水はイカ陸揚げ地区 A, B, C, D, E, F の6地区において採水し，50 cc 容の試験瓶に入れて実験室に持ち帰り，前項同様，推定，確定両試験を行つた。その実験結果は第6表の如くである。

Table. 6. Distribution of *Enterococci* in sea water

| Districts | Sea water | 1/10 diluted | 1/100 diluted | 1/1,000 diluted | M.P.N./g |
|---|---|---|---|---|---|
| A | 5 | 5 | 3 | 0 | 92 |
| B | 5 | 2 | 0 | 0 | 49 |
| C | 5 | 5 | 4 | 0 | 1,600 |
| D | 5 | 5 | 2 | 0 | 54 |
| E | 5 | 3 | 1 | 0 | 110 |
| F | 5 | 5 | 3 | 0 | 920 |

第6表に示した実験結果よりみるに，函館港内における海水中には何れの地区にも腸球菌の存在が認められた。即ち港内何れの地区の陸揚げ地でも海水は人糞その他で汚染されている事が考えられる。故に之等海水をもつて陸揚げ後イカを洗滌すれば海水中の腸球菌の附着する可能性は大である。C地区，F地区のイカ原料の表皮に腸球菌の存在の多い事は同地区の海水中に腸球菌の最確数の多い事と関連している事と思われる。

### Ⅲ. スルメイカより分離された腸球菌の性状について

前記の Azide dextrose broth において酸生成したものより，これを Azide dextrose agar を用いて平板培養し，黄変した集落を釣菌し，球菌の2ヶ以上連鎖したものを純粋培養しその性状を調べたがその性質は次の如くである。

(1) グラム陽性，(2) 運動性活潑であるが不規則的である。(3) 最適発育温度は37°C であるが，45°C でも発育し得る。(4) Azide dextrose broth に1.5%の割合に Agar を加えた培養基 (A. D. A. 培養基) の平板培養ではその集落は培養基表面のものは小形の実円であり，内部構造は顆粒状であり，その中心部は周囲よりも色が濃い。培養基内部のものはラグビー・ボール状をなすものが多かつた。集落の色は酸生成により僅かに黄色を呈するが，多数集落が発生すれば基面を一様に黄変せしめる。(5) 培養基のpHは培養後3.9～4.4となり沈澱を生ずる。(6) ガスを形成しない。(8) A. D. A. 培養基には大腸菌属は発育出来ないが，グラム陽性の桿菌のあるものは発育する。

以上の如き諸性質並に他の二,三の性質判定により，*Streptococcus faecalis ANDREWS* and *HORDER*[2] と類似するものと考えている。

### Ⅳ. 討 議 及 び 結 論

陸揚げ前のイカ原料の表皮に多数の腸球菌が存在する事は，漁獲後デッキの上に放置して居る間にデッキに附着していたものが附着するとか，又漁夫の手，履物，被服等より附着したものと思われる。又陸揚げ後の腸球菌の増加は表皮の場合は容器，手，土壌よりの附着が一応考えられ，又海水洗滌による増加も大たる要因となる。内臓の場合は海水による洗滌が最も大きな要因であろう。故に漁獲物の洗滌，保管等には衛生的の注意を要する。特にイカを陸揚げ前，陸揚げ後に拘らず海水で洗滌する事は禁止すべきであると考える。又各家庭においても生食の時は水道水又は清浄なる水をもつてよく洗滌する必要がある。

### Ⅴ. 要　　約

(1) 先ず腸球菌を大腸菌属と共に人，その他動物の糞便等による汚染度の指標として用い得るか否か，又腸球菌検出併用によつてそれらの汚染度を更に正確に知り得るか否かを実験したが，腸球菌の検出によつて汚染の程度を知る事が出来，又両法を併用する事によつて，より正確に汚染度を知り得る事が判明した。

(2) 函館近海において漁獲されたスルメイカについて腸球菌による汚染状態を陸揚げ前と陸揚げ後に分けて実験したが，イカの表皮，内臓共に腸球菌の存在が認められた。

(3) 陸揚げ前のイカ原料も陸揚げ後のイカ原料も共に表皮に存在する腸球菌の最確数は内臓のそれよりも大であつた。

(4) 陸揚げ前よりも陸揚げ後の方が表皮，内臓共に腸球菌の最確数は大であつた。この事は陸揚げ後外部よりの汚染即ち海水による洗滌，取扱者の手，土壌よりの汚染によるものと思われる。

(5) 函館港内の海水中には腸球菌の存在する事が認められた。即ち之等海水による洗滌は汚染度を増加する恐れが多分にあり，海水によるイカの洗滌は禁止しなければならない。

(6) 購買者がイカを生食する場合は常に水道水又は衞生的に清浄な水によつて洗滌しなければ不安である。

## 参考文献


(1) Ostrolenk M., Krasmer N. & Cleverdon, R. C. (1947). *Journ. Bacteriol.* **53**, 197-203.

(2) Bergey's *Dererminative Bacteriology.* p. 339.

(3) Mallmann W. L. and Seligmann E. B. (1950). *Amer. Journ. Public Health* **40** (3), March.

(4) 厚生省編纂 (1950). 衞生検査指針 III. p. 20.

(5) Ostrolenk, M. and Hunter, C. (1946). *Journ. Bacteriol.* **51** (6), 735-741.

(6) 谷川・国沢・阿部 (1953). 北大水産彙報 **4** (2), 185-191.

(7) 厚生省編纂 (1950). 衞生検査指針 III, p. 2.

(8) Tanikawa, E. (1937). Biological studies on the organisms of coli-group isolated from the intestines of oysters. *Arch. f. Mikrobiol.* **8**, 288, Berlin.

# 柔魚油の脂肪酸について*

山　田　　　実
（北海道大学水産学部魚油化学教室）

# Fatty Acid Constituents of Squid Oil

Minoru YAMADA
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

**Abstract**

The author studied on the fatty acids of squid (*Ommastrephes sloani pacificus STEENSTRUP*) oil and the following results were obtained.

(1) The mixed fatty acids prepared from squid oil had neutralisation value 188.8 and iodine value 193.3.
The yield of ether-insoluble brominated fatty acids was 77.81%.

(2) The contents of solid and liquid acids in mixed fatty acids estimated by lead salt alcohol method were 23.5% with iodine value 18.2 and 76.5% with iodine value 241.7 respectively.

(3) Highly unsaturated acids by lithium salt acetone method were found to be contained to the amount of 38.4% of total mixed fatty acids and they had neutralisation value 168.5, iodine value 338.2, and $n_D^{20}$ 1.4966.

(4) The contents of methyl esters of saturated acids in mixed acid methyl esters were 24.5—26.0%.

(5) It has been estimated that mixed fatty acids consist of saturated acids roughly 25%, acids of oleic acid series below 24%, and acids of higher unsaturation than those of oleic acid series above 51%.

(6) Saturated acids contained palmitic acid in the largest quantity. Next to this, stearic and myristic, and a little arachidic and vehenic acid have been found.

(7) Among acids of oleic acid series, $C_{16}$. $C_{18}$. $C_{20}$. $C_{22}$ and $C_{24}$ acids have been found.

(8) From among acids of higher unsaturation than those of oleic acid series, $C_{18}H_{28}O_2$, $C_{18}H_{30}O_2$ and $C_{22}H_{34}O_2$ have been found. It has been deduced that the following acids exist in the mixed fatty acids, namely, $C_{20}H_{32}O_2$, $C_{22}H_{36}O_2$ and $C_{24}H_{38}O_2$.

スルメイカ（*Ommastrephes sloani pacificus STEENSTRUP*）は北海道に於ては鰊に匹敵する漁獲高を有しその85—90%は北海道南部に集中してゐる。その内臓とくに肝臓から得られる油は乾性油資源の不足を補うため戦後とくに大量に採取されるようになり，その生産額は年々増加の傾向を示し，現在では2万ドラムを生産し重要な油脂資源としての地位を占めつゝある。

スルメイカの脂肪酸についてはすでに辻本及木村[1]の研究が発表されている。同氏等は中和価188.6，沃素価185.2の混合脂肪酸を得，そのエーテル不溶性臭化物の収量は76.29%，同臭素含量71.37%で鉛塩エーテル法により固体酸22.6%（沃素価14.1），液体酸77.4%（沃素価247.7）に分別した。リチウム塩アセトン法による高度不飽和酸の収率は41.3%（中和価176.5，沃素価372.1，$n_D^{20}$ 1.4953）であり，更に脂肪酸メ

* 昭和27年11月7日日本油脂化学協会名古屋油脂討論会に於て発表

チルエステルを分溜してパルミチン酸の存在を見てゐる。また鈴木[2]はイカ油に臭素を添加して得た臭化物を溶剤で分別し，そのグリセライド構成脂肪酸としてゾーマリン酸，リノレン酸，ステアリドン酸，ステアリドン酸の異性体，及アラキドン酸を得たと報告している。

著者[3]はさきに主として北海道産のスルメイカ油の多数の試料についてその性状を明かにしたが，同時にその代表的試料の一について脂肪酸組成を検索したので次にその結果について報告する。

尚最近高尾・富山[4]及辻野[5]が同じくイカ油の脂肪酸につきその研究結果を発表した。高尾，富山両氏は脂肪酸としてミリスチン酸，パルミチン酸，ステアリン酸，アラキヂン酸，ゾーマリン酸，オレイン酸，ガドレイン酸，ドコセン酸，$C_{20}H_{32}O_2$，$C_{20}H_{30}O_2$，$C_{22}H_{34}O_2$，$C_{22}H_{32}O_2$，$C_{24}H_{38}O_2$，カプリン酸，ラウリン酸，テトラデセン酸，$C_{18}H_{28}O_2$，$C_{18}H_{30}O_2$，$C_{22}H_{36}O_2$ の存在を報告し，また辻野氏は飽和脂肪酸として$C_{14}H_{28}O_2$，$C_{16}H_{32}O_2$，$C_{18}H_{36}O_2$，$C_{20}H_{40}O_2$，$C_{22}H_{44}O_2$，オレイン酸列の酸として$C_{16}H_{30}O_2$，$C_{18}H_{34}O_2$，$C_{20}H_{38}O_2$ $C_{22}H_{42}O_2$，また高度不飽和酸として$C_{18}H_{30}O_2$，$C_{18}H_{28}O_2$，$C_{20}H_{32}O_2$，$C_{22}H_{36}O_2$，$C_{22}H_{34}O_2$の存在を報告している。

## 実　験　の　部

### 供試油の性状

実験に供した油は昭和26年8月函館近海に於て漁獲したスルメイカの内臓より鱇釜にて加熱採油したものでその特数等第1表の如くである。

Table 1. Properties of squid oil

| | |
|---|---|
| Color | Reddish orange |
| Ref. index $n_D^{20}$ | 1.4820 |
| Specific gravity $d_4^{20}$ | 0.9267 |
| Acid value | 16.8 |
| Sapon. value | 184.9 |
| Iodine value | 195.9 |
| Unsap. matter (%) | 4.28 |

Table 2. Properties of mixed fatty acids

| | |
|---|---|
| Color | Yellow inclining slightly to orange |
| Melting point | 27—31°C |
| Neut. value | 188.8 |
| Iodine value | 193.3 |
| Ether-insol. brominated fatty acids (%) | 77.81 |

Table 3. Properties of solid and liquid acids

| | Solid acids | Liquid acids |
|---|---|---|
| Yield (%) | 23.5 (diff.) | 76.5 |
| Neut. value | 203.6 | 185.5 |
| Iodine value | 18.2 | 241.7 |
| Ref. index $n_D^{20}$ | — | 1.4815 |
| Melt. point | 53—55°C | — |

### 脂　肪　酸

前記試料より製取した混合脂肪酸の性状は第2表に示す。

混合脂肪酸を鉛塩アルコール法によつて固体酸と液体酸に分別した結果は第3表の如くである。固体酸中に含まれる不飽和酸の平均沃素価を80として計算すると固体酸は約18%存在することになるが，鉛塩アルコール法により海産動物油の混合脂肪酸から得られる固体酸は多くの場合可成り大きい沃素価を示し，一方ミリスチン酸，ラウリン酸の様な飽和酸はアルコール不溶性塩として完全には沈澱しない。殊に酢酸鉛の使用量を少くして固体酸の沃素価が僅少になるように操作すると之等の飽和酸は若干液体酸中に残存する傾向がある。著者[3]はさきに油脂グリセライド中の三飽和グリセライドの定量法として Hilditch[6]により行われた方法を飽和酸の定量に応用した。即ち供試油の混合脂肪酸をメチルエステルとなし之をアセトン溶液中で過マンガン酸カリで酸化し，不飽和酸メチルを完全に酸性物質としたのち之を未変化の飽和酸メチルより分離し，飽和酸メチルを定量するのである。本混合脂肪酸について行つた結果は第4表の如くである。

中性エステル中に存在する未変酸化の不飽和酸メチルをオレイン酸メチル(I.V. 85.7)と仮定，これより計算すると飽和酸メチルの量は24.5—26.0%となる。（混合脂肪酸中の飽和酸及不飽和酸は

Table 4. Saturated acids

| Exp. No. | 1 | 2 |
|---|---|---|
| Saturated methyl esters (%) | 27.21 | 26.78 |
| I.V. of sat. methyl esters | 8.4 | 2.7 |

夫々その平均C数が異なるため飽和酸と不飽和酸の含量比は飽和酸メチルと不飽和酸メチルのそれとは若干異なつて来る。併しその差はわづかであつて，飽和酸の平均C数を17，不飽和酸のそれを20，不飽和度を $F_3$ とすれば，飽和酸の含量は飽和酸メチルの含量より約0.1%少いだけである。）

以上の結果を綜合すると飽和酸の全量は約25%と推定して大きなあやまりはないものと思われる。次に混合脂肪酸よりリチウム塩アセトン法により高度不飽和酸（アセトン可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸）を分離したところ，中和価 168.5，沃素価 338.2，$n_D^{20}$ 1.4966 なる脂肪酸38.4%を得た。とゝに得たアセトン可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸及び原混合脂肪酸の沃素価より計算するとアセトン不溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸の沃素価は103.0となり，この中には飽和酸及びオレイン酸列の酸以外にオレイン酸列より不飽和度の高い酸を可成り多量に含むものと考えられる。もしアセトン可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸がオレイン酸列の酸を混入していないものとすれば原混合脂肪酸中に存在するオレイン酸列よりも不飽和度の高い脂肪酸の沃素価は338.2もしくはそれ以下である。その平均沃素価を338.2とし飽和酸の量を25%，オレイン酸列の酸の沃素価を 80—90 として計算するとオレイン酸列の酸は全脂肪酸中23.3—24.3%となる。

結局全脂肪酸中

| | | |
|---|---|---|
| 飽和酸 | 大約 | 25% |
| オレイン酸列の酸 | 〃 | 25%もしくはそれ以下 |
| オレイン酸列よりも不飽和度の高い酸 | 〃 | 50%もしくはそれ以上 |

と推定することが出来る。

**混合脂肪酸メチルエステルの分溜**

次に原混合脂肪酸（不鹼化物を含む）をメチルエステルとなし（その酸価0.6，鹼化価182.9，沃素価180.8 $n_D^{20}$ 1.4676）その700gを2回に分ち分溜して第5表の如く区分した。

Table 5. Fractional distillation of fatty acid methyl esters

| Fraction No. | Distillation temp. °C/5mmHg | Sapon. value | Iodine value | Ref. index $n_D^{20}$ | Yield(g) |
|---|---|---|---|---|---|
| I1 | —172 | 211.2 | 66.5 | 1.4483 | 40.0 |
| II1 | —172 | 209.0 | 68.9 | 1.4493 | 23.1 |
| I2 | 172—180 | 203.6 | 74.3 | 1.4495 | 18.9 |
| II2 | 172—180 | 202.6 | 78.5 | 1.4497 | 54.8 |
| I3 | 180—186 | 196.3 | 92.5 | 1.4522 | 35.2 |
| II3 | 180—186 | 197.6 | 100.1 | 1.4535 | 23.4 |
| I4 | 186—200 | 193.2 | 116.8 | 1.4558 | 39.2 |
| II4 | 186—193 | 192.2 | 121.9 | 1.4572 | 53.6 |
| I5 | 200—207 | 188.0 | 157.6 | 1.4612 | 48.8 |
| II5 | 193—200 | 184.3 | 179.1 | 1.4655 | 53.5 |
| I6 | 207—221 | 179.6 | 216.5 | 1.4708 | 57.3 |
| II6 | 200—207 | 178.8 | 219.1 | 1.4715 | 19.0 |
| II7 | 207—214 | 170.5 | 266.0 | 1.4795 | 56.0 |
| I7 | 221—235 | 168.7 | 268.1 | 1.4814 | 49.2 |
| II8 | 214—221 | 161.9 | 279.3 | 1.4880 | 35.2 |
| II9 | 221—226 (2mm) | 144.2 | 242.8 | 1.4937 | 5.0 |
| IR | Residue | 152.7 | 234.8 | 1.5045 | 61.4(diff.) |
| IIR | Residue | 137.8 | 192.7 | 1.5216 | 25.4(diff.) |

この結果から概測するに$C_{18}$酸もつとも多量で$C_{20}$酸，$C_{16}$酸，$C_{22}$酸之に次ぐもののようである。

**溜分の検索**

**(1) 粗溜分 I₁，II₁，I₂ の検索**

粗溜分 $I_1$ (S.V. 211.2)，$II_1$ (S.V. 209.0)，$I_2$ (S.V. 208.6) の合計71gを更に精溜して第6表の如き結果を得た。

Table 6. Rectifying fractional distillation of fractions $I_1$, $II_1$, and $I_2$

| Fraction No. | Distillation temp. °C/5mmHg | Sap. value | Iodine value | Ref. index $n_D^{20}$ | Yield(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $III_1$ | —168 | 217.8 | 39.8 | 1.4440 | 43 |
| $III_2$ | 168—174 | 208.6 | 47.7 | — | 27 |
| $III_3$ | 174—180 | 199.8 | 65.3 | 1.4493 | 10 |
| $III_R$ | Residue | 188.3 | 150.3 | 1.4629 | 20(diff.) |

Table 7. Rectifying fractonal distillation of fraction $III_1$

| Fraction No. | Distillation temp. °C/2.5mmHg | Sap. value | Iodine value | Ref. index $n_D^{20}$ | Yield(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $IV_1$ | —130 | 231.2 | 39.6 | 1.4437 | 31 |
| $IV_2$ | 130—137 | 222.0 | 20.4 | 1.4410 | 28 |

i) 溜分$III_1$は$C_{14}$酸及$C_{16}$酸の混合物と考へられるのでその22.6gを更に分溜して第7表の如く区分した。溜分$IV_1$は大体に於て$C_{14}$酸よりなるものと考へられるが鹸化すれば暗赤色に着色する。沃素価，屈折率共にやゝ高く試料の加熱酸化により生じた分解生成物を含むもののようである。之を鹸化して不鹸化物を分離，得たる脂肪酸 5.6g に80%アルコール50c.c.を加へて溶解し氷冷析出する結晶を再結し次の結果を得た。

| | | |
|---|---|---|
| 第1結晶 | 中和価234.9 | 融点 (°C) 49.7—50.3 |
| 第2結晶 | 中和価240.8 | 融点 (°C) 48—49 |
| 第3結晶 | 中和価242.4 | 融点 (°C) 49—50 |

第2結晶及第3結晶の中和価及融点は何れもミリスチン酸（中和価245.8，融点53.5°—54°C）のそれに近接する。この結晶とミリスチン酸との混合物の融点は両者の中間にあり，之等結晶はミリスチン酸を主成分とするものと認められる。また第3結晶を分離したときの濾液を濃縮,結晶を析出させたところ中和価は 241.7 であつて$C_{14}$以下の酸は認められなかつた。

次に$IV_1$及$IV_2$より80%アルコールで析出する結晶を分離除去したものを鉛塩アルコール法で処理して液体酸を分離した。このものは中和価 226.2，沃素価95.3，$n_D^{20}$ 1.4611（ゾーマリン酸 中和価220.7,沃素価99.8）であつてその中和価は$C_{14}H_{26}O_2$（中和価 248.0）よりも著しく低くむしろ$C_{16}H_{30}O_2$（中和価 220.7)に近い。中和価より見て $C_{14}H_{26}O_2$ は多少存在するかと思われるが其量は極めて微量であり，大部分は $C_{16}H_{30}O_2$ であると認められる。併し試料僅少のためゾーマリン酸かどうかは精査し得なかつた。

ii) 溜分$III_2$は大部分$C_{16}$酸よりなるものと考えられる。鹸化して得た脂肪酸12.8gに85%アルコール200c.c.を加えて溶解し14°Cで析出する結晶（A）を濾別，濾液を氷水中で冷却したところ結晶（B）が析出したので之を除去，濾液はアルコールを除去して脂肪酸（C）を得た。（A）及（B）は合計5.7gあり之を95%アルコールより再結するに中和価 219.4，融点 59.5—60°Cであつた。之を更に再結をくりかえし中和価 218.9，融点62°—62.5°C の結晶を得た。パルミチン酸（中和価219.0，融点 62—62.5°C）と混融するも融点不変であつた。よつてこの脂肪酸はパルミチン酸であることを単離確認した。

**(2) 粗溜分 I₃，II₂，II₃ の検索**

粗溜分 $I_3$ (S.V. 196.3, I.V. 92.5)，$II_2$ (S.V. 202.6, I.V. 78.5) 及び $II_3$ (S.V. 197.6, I.V. 100.1)

を更に精溜して第8表の如き結果を得た。

Table 8. Rectifying fractional distillation of fractions I₃, II₂, and II₃

| Fraction No. | Distillation temp. °C/5mmHg | Sap. value | Iodine value | Ref. index $n_D^{20}$ | Yield(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $V_1$ | 150—161 | 214.7 | 40.2 | 1.4449 | 23 |
| $V_2$ | 161—166 | 205.5 | 49.5 | 1.4468 | 26 |
| $V_3$ | 166—176 | 199.1 | 72.8 | 1.4501 | 22 |
| $V_4$ | 176—186 | 187.3 | 140.6 | 1.4599 | 15 |
| $V_R$ | Residue | 179.8 | 252.2 | 1.4842 | 8 |

溜分$V_3$は$C_{16}$酸及$C_{18}$酸より成るものと考えられる。鹸化して得た脂肪酸18.8gに95%アルコール150c.c.を加へて溶解し氷冷析出する結晶を分離し，濾液より得た脂肪酸を鉛塩アルコール法で処理しアルコール可溶性鉛塩を生ずる脂肪酸5.9gを得た。之をリチウム塩となし50%アルコールに不溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸0.6g及可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸4.5gに分離した。後者は中和価195.0，沃素価138.5，$n_D^{20}$ 1.4671で$C_{18}$酸を主成分としわづかに$C_{20}$酸を含むものの如くである。この脂肪酸にエーテル溶液中で臭素添加を行つたところエーテル不溶性臭化物約21%を得た。このものの臭素含量は63.93%であつて，之を加熱すると210°C附近より漸次暗色を帯び220°Cにて完全に黒変する。このエーテル不溶性臭化物を熱ベンゾール50倍容にて処理し，熱ベンゾール不溶性臭化物65.9%，同可溶性臭化物34.1%に分別した。前者はその臭素含量69.83%で215—220°Cで分解する。この熱ベンゾール不溶性臭化物はその全部が$C_{18}$酸の臭化物とはみとめ難いが，その臭素含量によると$C_{18}$酸の臭化物としては$C_{18}H_{28}O_2Br_8$（臭素含量69.83%）を含有する。また熱ベンゾール可溶性臭化物の臭素含量は65.56%で加熱すれば205°Cで分解する。此の臭化物には$C_{18}H_{28}O_2Br_8$の外$C_{18}H_{30}O_2Br_6$（臭素含量63.23%）を含有するものと認められる。エーテルに可溶な臭化物は之を石油エーテルで処理し不溶性臭化物0.4gを得た。臭素含量は59.00%で六臭化物の外四臭化物が若干存在するもののようであるが詳細は明かでない。

**(3) 粗溜分I₄，I₅，II₄，II₅の検索**

粗溜分I₄ (S.V. 193.2, I.V. 116.8), I₅ (S.V. 183.0, I.V. 157.6), II₄ (S.V. 192.2, I.V. 121.9), II₅ (S.V.184.3, I.V. 179.1) の合計170gを更に精溜し第9表の結果を得た。

Table 9. Rectifying fractional distillation of fractions I₄, I₅, II₄, and II₅

| Fraction No. | Distillation temp. °C/5mmHg | Sap. value | Iodine value | Ref. index $n_D^{20}$ | Yield(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| $VI_1$ | —150 | | | 1.4549 | 1 |
| $VI_2$ | 155—167 | | | 1.4492 | 13 |
| $VI_3$ | 167—175 | | | 1.4499 | 17 |
| $VI_4$ | 175—180 | 200.2 | 88.3 | 1.4519 | 16 |
| $VI_5$ | 180—185 | 191.5 | 120.6 | 1.4568 | 20 |
| $VI_6$ | 185—191 | 183.4 | 166.3 | 1.4633 | 11 |
| $VI_7$ | 191—200 | | | 1.4702 | 5 |
| $VI_8$ | 195—200 | | | 1.4757 | 4 |
| $VI_9$ | 195—200 (3mm) | | | 1.4823 | 3 |
| $VI_R$ | Residue | | | 1.5201 | 10(diff.) |

i) 溜分$VI_4$は$C_{16}$酸及$C_{18}$酸の混合物と考えられる。之を鹸化して脂肪酸23.8gを得た，その中和価205.2，沃素価90.8，之を鉛塩アルコール法で処理し液体酸を分離したところ中和価193.7，沃素価140.8，$n_D^{20}$ 1.4667なる脂肪酸10.1gを得た。$C_{18}$酸及$C_{20}$酸を含むものの如くである。このものより50%アルコール不溶性リチウ

塩を生ずる脂肪酸を分離した。その中和価 199.8，沃素価91.9，$n_D^{20}$ 1.4601 であつて中和価，沃素価，共にオレイン酸（中和価 198.8，沃素価 89.9）のそれに近接する。ハズラ法によつて酸化しその生成物を再結するに，中和価176.5，融点132—133°Cであり，オレイン酸より得られるヂオキシステアリン酸（中和価177.3 融点136°C）に殆んど一致する。

ii）溜分Ⅵ5 より脂肪酸27gを得，之をリチウム塩アセトン法にて繰返し二度処理し高度不飽和酸を分離し，中和価174.7，沃素価233.7，$n_D^{20}$ 1.4910なる脂肪酸2.1gを得た。中和価より見るに $C_{20}$酸及 $C_{22}$酸よりなるものと推定される。この脂肪酸にエーテル中で臭素添加を行いエーテル不溶性臭化物を得た。その臭素含量は67.99%で加熱するに220°Cで着色しはじめ230°C附近にて分解する。その臭素含量より見れば $C_{20}$ 酸としては$C_{20}H_{32}O_2$（臭化物の臭素含量67.76%）を含むもののようである。

iii）次に溜分Ⅵ6 より脂肪酸15.2gを得た。95%アルコール 30c.c. を加へ氷冷析出する固体酸 0.5g を分離，残部を鉛塩アルコール法で処理し固体酸2.8gを得，両者を合して再結晶し，中和価202.4，融点 66—66.5°Cの脂肪酸を得た。再結晶をくりかへすに中和価 196.9，融点 68—68.7°C となつた。大部分は ステアリン酸（中和価 197.4，融点 69.5—70°C）で之にパルミチン酸が混在するもののようである。Twitchell[7)8)]の融点降下法によりこの結晶中のステアリン酸及びパルミチン酸を定量したところ，前者は約83%，後者は約 5 %であつた。この結果から云つてステアリン酸の存在確実である。

95%アルコールに可溶な鉛塩を生ずる脂肪酸は9.5g得られその中和価 191.1，沃素価184.5，$n_D^{20}$ 1.4749であつた。このものをリチウム塩とし50%アルコールで処理し，不溶性塩を生ずる脂肪酸1.9g及可溶性塩を生ずる脂肪酸6.2gを得た。50%アルコールに不溶なリチウム塩を生ずる脂肪酸は中和価188.0，沃素価104.7，$n_D^{20}$ 1.4625 で，之に水素添加を行い水素加成物を 95% アルコールより再結せしめた。このものの中和価は184.8，融点57—58°Cで Twitchell の融点降下法によりこの結晶中のアラキヂン酸及ステアリン酸を定量したところ前者は約 50%，後者は約 45% であつた。従つて以上の結果から見て水素添加前の原脂肪酸中には $C_{18}H_{34}O_2$ の外$C_{20}H_{38}O_2$（中和価180.8，沃素価81.8）を含有する。

50%アルコールに可溶なリチウム塩を生ずる脂肪酸は中和価184.1，沃素価201.7で之をリチウム塩アセトン法により処理したところ中和価165.7，沃素価292.7，$n_D^{20}$ 1.4966なる酸が1.7g得られた。中和価の著しく低いのは不鹸化物の混入によるものと考えられたので不鹸化物の分離を行つたのちエーテル溶液中にて臭素添加を行いエーテル不溶性臭化物97.66%を得た。このものの臭素含量は70.43%であつた。更に脱臭素を行つて得た脂肪酸は中和価168.2，沃素価 372.6 であつて $C_{22}H_{34}O_2$（中和価169.8，沃素価334.2，臭化物の臭素含量70.76%）のそれに殆んど一致し該酸を含有すること確実である。

**（4） 粗溜分Ⅰ6，Ⅱ6，Ⅰ7，Ⅱ7 の検索**

粗溜分Ⅰ6（S.V. 179.6, I.V. 216.5），Ⅱ6（S.V. 178.8, I.V. 219.1），Ⅱ7（S.V. 170.5, I.V. 266.0），Ⅰ7（S.V. 168.7, I.V. 268.1）の合計174.7gを更に精溜して第10表の結果を得た。

Table 10. Rectfying fractional distillation of fractions Ⅰ6, Ⅱ6, Ⅰ7, and Ⅱ7

| Fraction No. | Distillation temp. °C/5mmHg | Sap. value | Iodine value | Ref. index $n_D^{20}$ | Yield(%) |
|---|---|---|---|---|---|
| Ⅶ1 | —150 | | | 1.4726 | (0.3) |
| Ⅶ2 | 150—185 | | | 1.4641 | 7 |
| Ⅶ3 | 185—190 | 187.4 | 165.3 | 1.4635 | 6 |
| Ⅶ4 | 190—195 | 186.1 | 187.2 | 1.4668 | 18 |
| Ⅶ5 | 195—200 | 181.6 | 221.7 | 1.4726 | 22 |
| Ⅶ6 | 200—205 | 177.0 | 247.7 | 1.4782 | 15 |
| Ⅶ7 | 205—210 | 172.2 | 256.8 | 1.4814 | 9 |
| Ⅶ8 | 210—215 | | | 1.4854 | 8 |
| Ⅶ9 | 210—215 (2.5mm) | | | 1.4904 | 1 |
| ⅦR | Residue | | | 1.5216 | 14(diff.) |

i）溜分Ⅶ$_6$は主として$C_{20}$酸より成るものと考へられる。之より脂肪酸21.9gを得，鉛塩アルコール法により固体酸と液体酸に分別した。固体酸の収量は1.3g，之を95%アルコールより再結し，中和価178.9，融点62.5--63°Cの結晶を得た。Twitchell の融点降下法によりアラキヂン酸及びベヘニン酸を定量したところ夫々約52%及び約28%であつてアラキヂン酸が存在するがその外ベヘニン酸も存在する。

液体酸は収量19.2gで中和価 170.5，沃素価249.5，$n_D^{20}$ 1.4887であつた。之をリチウム塩アセトン法で処理しリチウム塩の沈澱を濾別し，濾液よりはアセトンに可溶性なるリチウム塩を生ずる脂肪酸9.2gを分離した。またリチウム塩の沈澱は50%アルコールにて処理して，50%アルコール不溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸2.2g及び50%アルコール可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸5.2gに分別した。

50%アルコール不溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸は中和価173.5，沃素価80.2，$n_D^{20}$ 1.4623，之に水素添加を行い水素加成物を95%アルコールより再結したところ中和価175.7，融点66°Cの結晶を得た。Twitchell の融点降下法によりアラキヂン酸及ベヘニン酸を定量した結果は夫々約52%及び約33%であつた。この結果から見ると水素添加前の原脂肪酸中には$C_{20}H_{38}O_2$（中和価180.8，沃素価81.8）の外$C_{22}H_{42}O_2$（中和価165.8，沃素価75.0）を含有することが推定される。

次にアセトン可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸は中和価170.4，沃素価 335.9，$n_D^{20}$ 1.5048であつた。之を再びリチウム塩アセトン法で処理して得たものは中和価169.8，沃素価349.3，$n_D^{20}$ 1.5022であつた。之にエーテル溶液中で臭素を添加し130.7%のエーテル不溶性臭化物を得た。之を熱ベンゾールで処理して得た熱ベンゾール不溶性臭化物は加熱するに215°C附近で黒変し，その臭素含量は70.56%であつて$C_{22}H_{34}O_2$（中和価 169.8，沃素価 334.2，臭化物の臭素含量 70.76%）の存在明かであるが沃素価のやゝ低い点より見て$C_{22}H_{36}O_2$（中和価168.8，沃素価305.6，臭化物の臭素含量65.80%）が存在することが推定される。

ii）溜分Ⅶ$_8$より得た脂肪酸3.3gを鉛塩アルコール法で処理し固体酸を分離した。再結晶するに中和価160.0融点59°Cの不純な結晶を得たが微量のため精査しえなかつた。

液体酸は中和価163.5，沃素価254.9で大体$C_{22}$酸より成るものと考えられる。その5.5gをリチウム塩アセトン法で処理しリチウム塩の沈澱を濾別し，この沈澱を50%アルコールで処理し，50%アルコール不溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸を分離した。このものは収量1.7g，中和価164.6，沃素価82.7，$n_D^{20}$ 1.4637であつた。水素添加し，水素加成物を95%アルコールから再結すると中和価158.1，融点71.4°Cであり Twitchell の融点降下法によつてベヘニン酸（中和価164.9）を定量した結果は約63%であつた。従つて中和価より見てこの結晶中にはテトラコサン酸（中和価152.3）の存在明かである。よつて水素添加前の原脂肪酸中には$C_{22}H_{42}O_2$の外$C_{24}H_{46}O_2$（中和価153.4，沃素価69.3）の存在が推定される。

**（5） 粗溜分Ⅱ$_8$の検索**

粗溜分Ⅱ$_8$（S.V.161.9，I.V. 279.3）を更に精溜し210°C—215°C（5mmHg）の溜分をとり脂肪酸7.4gを分取した。中和価166.6，沃素価229.3，$n_D^{20}$ 1.4888であつて之をリチウム塩アセトン法で処理し中和価159.9，沃素価365.2，$n_D^{20}$ 1.5109なる脂肪酸2.2gを得た。その一部をエーテル溶液中で臭素添加して得たエーテル不溶性臭化物は臭素含量 63.83%，之を熱ベンゾールで処理し熱ベンゾール不溶性臭化物を分離したところその臭素含量は69.94%であつた。又一部に水素添加を行つて得た水素加成物を95%アルコールより再結したものは中和価149.2，融点75—76°Cであつてこの中には$C_{24}$酸の外$C_{26}$酸も若干含有されるものと推定される。従つて原脂肪酸中には$C_{24}H_{38}O_2$（中和価156.6，沃素価 354.2，臭化物の臭素含量 69.05%）の存在が推定され，その外$C_{26}$酸も存在することが考えられる。

## 要　　　約

以上柔魚油の脂肪酸につき研究した結果を要約すると次の如くである。

（1） 混合脂肪酸は中和価188.8，沃素価193.3，エーテル不溶性臭化物の収量77.81%であつた。

（2） 鉛塩アルコール法により固体酸23.5%（沃素価18.2）液体酸76.5%（沃素価241.7）に分別した。

（3） 高度不飽和酸（アセトン可溶性リチウム塩を生ずる脂肪酸）の量は全脂肪酸の 33.4%で，その中和

価168.5，沃素価333.2，$n_D^{20}$ 1.4966であつた。

(4) 混合脂肪酸メチルエステル中の飽和酸メチルの量は24.5—26.0%である。

(5) 全脂肪酸中，飽和酸は大約25%，オレイン酸列の酸は約25%もしくはそれ以下，オレイン酸列より不飽和酸の高い酸は約50%もしくはそれ以上と推定することができる。

(6) 飽和酸としてはパルミチン酸もつとも多量に存在し，その他ステアリン酸，ミリスチン酸之につぎ，アラキヂン酸，ベヘニン酸も微量存在する。

(7) オレイン酸列の酸としては $C_{16}H_{30}O_2$，$C_{18}H_{34}O_2$，$C_{20}H_{38}O_2$，$C_{22}H_{42}O_2$ 及び$C_{24}H_{46}O_2$ の存在が知られる。

(8) オレイン酸列よりも不飽和度の高い酸は，$C_{18}$酸としては$C_{18}H_{28}O_2$，$C_{18}H_{30}O_2$ 存在し，$C_{20}$酸としては$C_{20}H_{32}O_2$ の存在が推定され，また $C_{22}$酸としては $C_{22}H_{34}O_2$ 存在し，その他$C_{22}H_{36}O_2$ が存在するもののようである。また$C_{24}$酸としては $C_{24}H_{38}O_2$ の存在が推定され，更に $C_{26}$酸が存在するかも知れない。

本実験の遂行にあたり終始御懇篤な御指導を賜つた名古屋大学工学部応用化学教室外山修之教授に深謝の意を表する。また本実験の一部を担当された名古屋大学工学部応用化学教室外山研究室水田政輝氏に対し厚く感謝する。

## 文　　献

(1) 辻本満丸・木村包介 (1927). 東工試報 **22** (12), 73.

(2) 鈴木文助 (1929). P.I. A. **5**, 269.

(3) 山田実・高井英子・水田政輝・外山修之 (1953). 油脂化協 **2**, 149.

(4) 高尾正保・富山新一 (1953). 農化 **27**, 737.

(5) 辻野勇 (1954). 農化 **28**, 56.

(6) Hilditch, T. P. & Lea, C.H. (1927). *J. Chem. Soc.* 3106.

(7) Twitchell, E. (1914). *J. Ind. Eng. Chem.* **6**, 564.

(8) ―――――― (1917). *Ibid.* **9**, 581.

尚 Twitchell の融点降下法については外山修之 (1927). 東工試報 **22** (11), 27 参照.

# 動物試験によるスルメイカ肉蛋白の栄養価とその消化吸収率について

吉村克二・奈良盛

北海道大学水産学部 水産生物化学教室　北海道学芸大学 函館分校

# Studies on the Nutritive Value and Absorption Coefficient of "Surume-Ika" (*Ommastrephes sloani pacificus*) Protein

Katsuji YOSHIMURA and Sakan NARA

*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*　*Hakodatae Branch, Hokkaido Gakugei University*

**Abstract**

The authors have attempted to ascertain the nutritional value and absorption cceficient of Surumeika (*Ommastrephes sloani pacificus*) protein by the breeding of white rats, and obtained the following results.

The nutritional value of Surumeika protein is not only inferior to other animal protein but prominent standard casein diet. The absorption cceficient of Surumeika protin is about 75—80% and somewhat inferior to beef or casein but as effective as other animal protein.

## I 緒　　言

イカ肉の約20%を占める蛋白質の栄養的価値に就いては，従来主として理化学的方法により検討され，他の水産動物に比較して何等遜色のない良好なものであると，今日一般に考えられている。即ちイカ肉蛋白を成分的にみると筆者等の一人[1]の報告によれば，胴体肉の塩酸加水分解中には15種のアミノ酸とタウリンが含まれ，メチオニン，フェニールアラニン，トリプトファン[1]は認められぬが，他の栄養的に必須なアミノ酸は全部含有されていることが確認されている。特に塩基性アミノ酸—アルギニン，リジン，ヒスチヂンの含量は他の魚類と大差ないと報告している。又北林氏等[3]の研究により，スルメイカ肉蛋白は一般に魚類に比して塩基性窒素が多く，その中シスチン及びアルギニンが特に多く，アミノ酸の窒素形態及び含量よりみると，他の動物肉蛋白に較べて，何等遜色ないと報告している。更に屡々問題になるイカ肉の消化率に関しては谷川氏等[4]のペプシンによる消化試験により，乾燥処理によるイカ肉以外は，カレイ肉と大差なく良好で，新鮮胴体肉では85%強，風乾2日目で80%強，6日目（大凡スルメ状態になつている）で60%強と報告している。イカ肉蛋白の動物飼育試験による栄養価の研究は古く1918年理研の鈴木梅太郎博士等[5]の水産動物蛋白の研究の一環として，混合食中ヤリイカ(*Loligo bleekeri KEFIERUSTEIN*)肉蛋白を10%添加した場合につき，良質なカゼイン，牛肉蛋白等に較べて劣らぬ良好な結果を得たが，7%に減少すると，鰊，鮭，カツオ等は牛肉と同じ標準成長を示すのに，マグロ，サバ等は稍劣ると報告している。イカ肉に関しては特に記録はなく全く不明である。因に鈴木氏等が動物試験に供せる飼料の配合は，肉蛋白10%，無蛋白乳28%，バター14%，澱粉48%である。さて，筆者等は市販の鯣，粗蛋白等混合飼料中7%として，白鼠による飼育を試み，更に鯣混合食については窒素の生体内出入より消化吸収率を測定したので，是に纒めて報告する次第である。尚この報告の要旨は昭和28年9月18日，日本化学会北海道支部函館地方大会にて講演したものである。

## II 實験方法及び結果

実験は次の2項目に大別される。1) 動物飼育試験, 2) 消化吸収率試験。

1) 動物飼育試験

使用動物は北大理学部山下生化学研究所で多年動物試験用として飼育せる同腹子の白鼠（山下系）5匹である。試験期間は予備試験期間を除き昭和28年6月24日から同年8月末迄の約70日間である。給与試料は前田氏等[6]の方法により，第一表の如く3匹に分ち，カゼイン区を対照区として比較試験を実施した。飼料配合は第一表の如くである。

Table 1. Mixed rate of diet

| Composition \ Section | (1) Surume | (2) Ika protein | (3) Casein |
|---|---|---|---|
| Starch % | 73 | 73 | 73 |
| Protein % | Surume 7 | Muscle protein of Ika 7 | Casein 7 |
| Butter % | 15 | 15 | 15 |
| Macllum salt % | 5 | 5 | 5 |
| Dry yeast % | 2 | 2 | 2 |

(1) Powder of first calss Surume which in sale
(2) Vacum-dried muscle powder of Surumeika which boiled with 3—4 times of water
(3) Refined casein by rennet process

動物は幼鼠（約50〜70g）から開始し，1籠1匹宛とし，各匹1日給与量は10〜15gで各飼料は団子状に整形し煮熟して定時に給与した。同時に毎日水を充分に与えた。因に各区の調製飼料を一般分析した結果は第2表に示す如くである。

栄養価の判定は常法に倣い，主として体重の増加に重点を置き，同時に栄養障害による特異な挙動等につき充分観察した。全期間中の体重の変化状況は第3表，第1図に示す如くである。

第2表,第1図より明白な通り，3区共極めて良好な成績を示しており，理想的飼料で多年にわたり実験せる Greenman Duhring[7] の標準曲線を何れも若干上廻る好成績で，中でも特に粗蛋白区のものはスルメ区に比して1割方優れた結果を得ている。特筆すべき点は両区共カゼイン区に比較してむしろ優れた成績を示している事実を確認したことである。No. 4（♂）は雄なので雌に較べて25%も総体的に上廻つており，一般的傾向とよく一致している。尚第2表によると給与せる蛋白源の実際値が8%前後になつている点は種々の理由が挙げられようが，質的に量的にビタミンB給源として2%添加したドライイーストが可成り影響を及ぼしていることが考慮される。

Table 2. Composition of diet

| Section \ Composition | | Water | Crude-protein | Crudn-fat | Crude-ash | Nitrogen free extract | Reducing suger | Calorie |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Surume | A | 5.98 | 8.17 | 12.57 | 3.49 | 69.79 | 69.23 | |
| | B | | 8.68 | 13.36 | 3.71 | 74.25 | 68.31 | 452 |
| Protein | A | 7.34 | 7.68 | 11.66 | 3.00 | 70.32 | 63.12 | |
| | B | | 8.28 | 12.60 | 3.23 | 75.89 | 68.12 | 450 |
| Casein | A | 7.74 | 7.02 | 11.24 | 3.04 | 70.96 | 62.86 | |
| | B | | 7.67 | 12.18 | 3.29 | 76.91 | 68.13 | 447 |

2) 消化吸収試験

鯣混食区の No. 1（♀）を使用し8月7日から同月27日迄隔日食下量及び糞中の全窒素をキエルダール法により測定し，下記の関係式より消化吸収率を測定した。即ち

$$消化吸収率(\%)=\frac{食下量全窒素-糞中全窒素}{食下量全窒素}\times 100$$

Table 3. Change of body weight of white rat

| Period / Section | | Preliminary period body weight | | Experimentary period | | | | | | | Increase of body weight in experimentary period | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Start | finish | start | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 | finish (68) | Total | per one day |
| | | Jun. 12 | 〃 24 | 〃 24 | Jul. 4 | 〃 14 | 〃 24 | Aug. 3 | 〃 13 | 〃 31 | | |
| Surume | No. 1 (♀) | 67.0 | 77.5 | 77.5 | 101.5 | 118.5 | 136.0 | 164.0 | 182.5 | 194.5 | +117.0 | +1.74 |
| | No. 2 (♀) | 69.0 | 75.0 | 75.0 | 101.5 | 118.0 | 138.0 | 160.0 | 178.5 | 195.5 | +120.5 | +1.79 |
| Protein | No. 3 (♀) | 67.0 | 84.0 | 84.0 | 111.5 | 127.0 | 142.0 | 178.0 | 199.5 | 216.0 | +132.0 | +1.97 |
| | No. 4 (♂) | 68.0 | 84.5 | 84.5 | 111.0 | 131.0 | 149.5 | 187.5 | 217.5 | 255.0 | +170.5 | +2.54 |
| Casein | No. 5 (♀) | 61.5 | 72.5 | 72.5 | 97.0 | 119.0 | 129.0 | 165.5 | 275.5 | 183.5 | +111.0 | +1.65 |

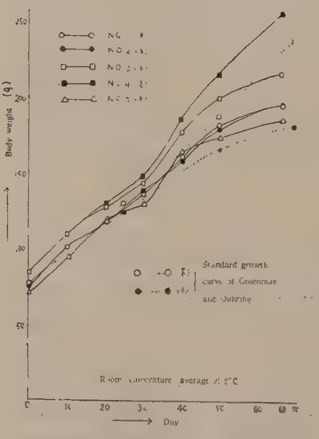



Fig. 1. Increase of body weight

当試験中同時に尿中の全窒素も測定し，動物体内の蛋白の出入を調べる一方法として窒素平衡も算出してみた。即ち生体の含窒素物の摂取と排泄の間には標準成長している動物では一定の平衡関係があるという現象が認められるのである。その結果は第4表，第2図に示す如くである。

第3表から明らかなる如く，鯣混食の鯣の消化吸収率は大凡75～80%であり，必らずしも高率ではないが特に低率と断定するには早計であろう。又窒素平衡は0.060～0.115g の範囲で何れも正値を示していた。

## Ⅲ 考　　察

上述の如く動物試育試験に依り各蛋白給源は極めて良好な成績をあげたが，飼料配合として 7～8% の蛋白では一般に低蛋白食餌で蛋白の栄養価判定の試験として果して妥当であるか否かの問題が残されるわけであるが，10%の場合には既に報告されているので，低率にして実施してみた。第4表によつても明白な通り，試験期間中の食下量が1日約20g に達している事実は特異的と言わねばならずその理由として未だ不詳ではあるが，給与飼料が動物の嗜好によく合つたゝめと言うよりはむしろ低蛋白飼料のため蛋白源の補充の意味で自然に食下量も増大したのではないかと考察されるのである。スルメ区と蛋白区では若干の差異を示すが，両飼料の差異は主としてイカ肉のエキス分即ち可溶性の非蛋白態窒素成分―アミノ酸，プリン塩基，アミン，ベタイン等の多寡によるものと考えられ，エキス分は僅少のほど良好であろうと推定されるのである。更に筆者等の1人[8]の報告によるとスルメイカ肉の塩基性アミノ酸の含量は煮熟イカが鯣よりリヂンに於いて約5割，アルギニンでは約1割多いと言う。この事実は必須アミノ酸の含量の多い煮熟抽出蛋白を給与せる方が稍々優れている理由を裏付けるものと考察される。しかしこの点は必須アミノ酸の必要量とかエキス分中の微量成分がもつ生理作用等の検討により一層明白になるものであり，現段階では推察の域を出ていない。

次に鯣混合飼料の鯣の消化吸収率に関してであるが，一般に食品の消化率は他の食品との配合割合及び調

Table 4. Absorption coefficient of protein in mixed diet

| Period | Body weight (g) | Consumption: Foods (g) | Consumption: Nitrogen (g) | Excretion: Urine (g) | Excretion: Faeces (g) | Excreted nitrogen: Urine (g) | Excreted nitrogen: Faeces (g) | Excreted nitrogen: Total (g) | Nitrogen equilibrium | Absorption coefficient |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| August 1 | 160.2 | 23.9 | 0.185 | 8.97 | 1.7 | 0.045 | 0.019 | 0.064 | +0.121 | 89.7 |
| 2 | — | 22.2 | 0.172 | 6.95 | 5.0 | 0.049 | 0.076 | 0.125 | +0.047 | 55.8 |
| 3 | 164.0 | 17.4 | 0.164 | 5.35 | 4.4 | 0.035 | 0.065 | 0.100 | +0.064 | 60.3 |
| 4 | — | 20.4 | 0.183 | 4.92 | 3.0 | 0.035 | 0.038 | 0.073 | +0.110 | 79.2 |
| 7 | 172.0 | 24.9 | 0.203 | 9.51 | 3.1 | 0.062 | 0.047 | 0.109 | +0.094 | 77.3 |
| 9 | 176.5 | 24.6 | 0.224 | 9.60 | 1.9 | 0.083 | 0.053 | 0.136 | +0.088 | 76.3 |
| 11 | 181.0 | 24.3 | 0.208 | 7.30 | 1.5 | 0.063 | 0.034 | 0.097 | +0.111 | 83.6 |
| 13 | 182.5 | 23.1 | 0.196 | 8.20 | 1.4 | 0.061 | 0.056 | 0.117 | +0.079 | 71.4 |
| 15 | 184.5 | 23.5 | 0.200 | — | 0.8 | — | 0.033 | — | — | 83.5 |
| 17 | 186.0 | 21.4 | 0.181 | 6.30 | 0.9 | 0.083 | 0.038 | 0.121 | +0.060 | 79.0 |
| 19 | 187.5 | 24.0 | 0.187 | 5.65 | 1.3 | 0.042 | 0.045 | 0.087 | +0.091 | 75.9 |
| 21 | 190.0 | 25.4 | 0.223 | 6.80 | 2.1 | 0.054 | 0.054 | 0.108 | +0.115 | 75.6 |
| 23 | 192.0 | 23.1 | 0.173 | 6.15 | 1.5 | — | 0.038 | — | — | 78.0 |
| 25 | 192.5 | 22.0 | 0.187 | 5.45 | 1.4 | 0.071 | 0.037 | 0.108 | +0.065 | 80.2 |
| 27 | 193.0 | 23.6 | 0.202 | 9.20 | 1.6 | 0.078 | 0.046 | 0.124 | +0.078 | 77.2 |

Experimental animal is white rat No.1 (♀)

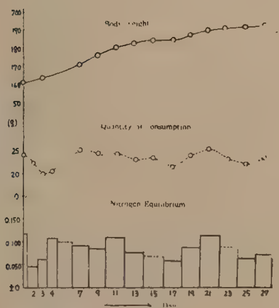



Fig. 2. Nitrogen equilibrium of mixed diet

理法等によつて変動するものであるし，特に動物試験法による測定は技術的にも多くの困難があり，劃一的な成績はなかなか期待され難い。第４表に示す如く区々の値が得られたのであるが筆者等は最も妥当な成績として75～80％としたのである。この成績に対して正当に比較すべき資料がなく，検出すれば，同一の配合資料及び調理法等による報告がないためその良否の判定に速断は許されないのであるが，谷川氏[4]並に Atwater 氏[9]等の報告と比較すれば，牛肉，カゼイン等には劣るが，動物性蛋白質の消化率と較べて大きな差は認められないものと考察される。尙短期間ではあるが窒素平衡は既述の如く，凡そ正値であることが第２図より明白な通り食下量と稍比例的関係にある事実は全窒素物が不足なく供給されている事実と窒素分が大凡同じ程度に消化吸収にあずかつている証拠であると考察されるのである。

## Ⅳ 結　論

動物試験は理化学的試験と異つて，精細な成績を期待することは極めて困難ではあるが，以上の結果から大凡の傾向として結論されることは次の如くである。

1） 動物飼育試験に依るスルメイカ肉蛋白市販鯣等の栄養価は混合飼料中蛋白給源として７％加えた場合に

於いても，カゼイン等に劣らぬ標準成長を示した。

2） 鯣7％混合食の含窒素物の消化吸収率を測定した結果大凡75〜80％の成績を得た。これは牛肉，カゼイン等のそれには稍々劣るが動物性蛋白質としては決して低率のものとは考えられない。

## 文　　　献


1） 吉村（1953）．北大水産彙報 3（3），205．

2） 波多越（1935）．日化 56（221）．

3） 北林（1952）．北水試月報 9（3），44．

4） 谷川（1952）．北大水産彙報 3（1），75．

5） 鈴木（1924）．理化学研究所彙報 1（3），232．

6） 前田（1937）．理化学研究所彙報 16，651．

7） Greenman & Duhring．動物飼育試験法（中宮次郎著）p. 129．

8） 吉村（1953）．北大水産彙報 3（3），211．

9） Atwater．栄養化学（桜井芳人著）p. 108．

# 海中濁度の研究

## 第1報　濁度計の試作と予備的観測

福田雅明・井上直一・西沢　敏
（北海道大学水産学部漁法物理学教室）

# Investigation of Turbidity in the Sea

## I. Design of a turbidity-meter and preliminary observation

Masaaki FUKUDA, Naoibhi INOUE and Satoshi NISHIZAWA
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

### Abstract

The investigations of turbidity and suspended matter in the sea have recenty attracted not a little attention in oceanography and fishery science. The turbidity and suspended matter in the sampled water, however, do not always remain in the same state as in the sea. The authors designed a turbidity-meter which made it possible to measure the turbidity *in situ*, without its being disturbed by the day-light. Some measurments were done with this turbidity-meter in the oceanographical survey of Ishikari Bay in August, 1953, using the "Oshoro Maru", the training ship of the Hokkaido University. Several types of vertical distibutions were observed in the coastal water, the offshore water and where the both waters were mixed. In some cases, the turbidity indicates the water mass which is characterised by distinctive salinity and temperature, as is shown in the salinity and turbidity distribution in 25 m and 50 m layers in Ishikari Bay. This coincidence of the distributions of turbidity and salinity is often disturbed by the precipitation of suspended particles or upwelling of the detritus accumulated on the bottom because of turbulence, as shown in the sectional diagram of the distribution of turbidity and salinity along the flow of the river water into the sea. At an observing station off Takashima, a continuous measurement was also carried out for 24 hours, when a diurnal variation of turbidity was observed that suggested to the authors a creeping movement of the offshore water on the coastal floor, caused by the tidal current. At the same station, turbidity was also measured using filtered light. The results showed that the absorbing or scattering of each stratum showed different characters as the filter is changed. Close relationship between the indication of the turbidity-meter and the transparency indicated by the Secchi-disc was also obtained, though these seemed not to be a perfect one to one correspondense. Further research is necessary to make this point clear.

### 緒　　言

従来セツキー板によつて定義された透明度と云う概念が海洋観測量の一つとして用いられていた。然しこれは海の表層だけのもので，中層及び底層の透明度はこのような方法では測る事が出来ない。潜水探測器（Inoue, Sasaki & Oaki, 1952）で観測して見ると海中の透明度は表層，中層，底層で異り，又その変化もなかなか激しいものである。この透明度，又はその逆の濁りを構成する因子は複雑なものであるがこれ

は水塊自身が含有している物質によるばかりでなく，海底の推積物質との間に擾乱による交換も行われて得られる物質の影響もあるに違いない。この様な意味で海中の濁りは水塊又は水塊の流動の歴史を示す一つの指標となるものと考へられる。最近 Jerlov (1953) は海中の微粒子懸濁物を Tyndall-meter によつて測定し，水塊の流動を非常にはつきりと調べている。然し Jerlov も云つているように，一度海水を採水してしまつてからの懸濁状態は現場に於ける状態とは多少変化するらしく，出来れば現場に於いて直接の観測が望ましいのである。然しこれは中々困難な仕事であつて深海では殆んど不可能である。Joseph (1949) は現場で任意の波長の光で測る事の出来る濁度計を製作して浅海の濁りを測定している。V. K. Wyrtki (1950) は同じ測定器を用いて海中の擾乱を解析している。海中の濁りを知ることによつて特に沿岸の複雑な流動を知り，更に濁りに対する魚族の生態等を知る事が出来るならば濁りの研究は将来漁場や漁法の研究に有力な手段を与えることゝなろう。

我々はこのような観点から海中の濁りの研究を計画し，先ず濁度計の試作にとりかゝつた。この報告は専ら試作した濁度計の構造及び，これを用いて予備的に行つた二三の観測に就いて書かれたものである。

## 装　　置

海中現場で濁度を測定する方法は色々あるが，我々は海中に光源を置き，その光束が海中を通る間に吸収散乱されて減衰する割合から濁度を測定する方式を採用した。

Fig. 1に装置の外形の写真を，Fig. 2に装置の電気回路図を示す。電源部，増巾測定部は船上に置き，

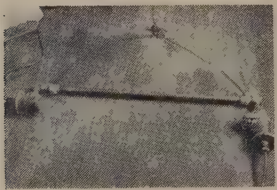


Fig. 1. Photograph of the instrument

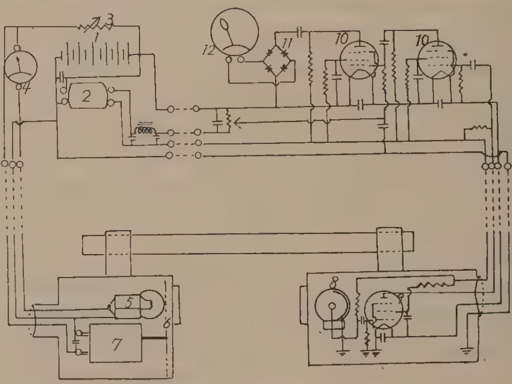


Fig. 2. Schematic diagram of the turbidity-meter

1) Cell
2) Converter
3) Variable resistance
4) Ammeter
5) Lamp
6) Sector
7) Motor
8) Photcelectric tube
9) Vacuum tube
10) Vacuum tube
11) Cuprous oxide rectifier
12) $\mu$-Ammeter

光源部，受光部はワイヤーで吊して海中に下す。光源部，受光部は各々直径約10 cm の砲金の円筒に納め，直径約4 cmの砲金製の水平な棒に任意の距離はなして固定されるようになつている。電源は6 Vの蓄電池2個(1)を直列にしたものから採つた。真空管用のB電源は，12 V蓄電池からコンバーター(2)を用いて150 Vを作つた。光源用ランプ(5)は12 V，6 Wの自転車用ランプを利用した。此の光度の調整のための可変抵抗(3)とその電流を測る電流計（4）をランプと直列に接続させた。ランプの直前にセクター（6）を置き，それを小型モーター（7）で回転させそれによつて強さ一定の光束を点滅光束に変調した。受光部の窓のそばに光電管マツダ PG-50 G（8）を置き，コンデンサーで真空管1 T4（9）に結合してある。増巾測定部には，2個の真空管1 T4，3 S 4（10）を用い，出力を亜酸化銅整流器（11）で整流して100$\mu$Aの電流計（12）で測定するようにした。減衰器は増巾部の入力側に設け，これによつて測定範囲を5段階に分けた。光源の発散光束をセクターによつて約400*cycle/sec*の変調光束にしたので，光電管より増巾用真空管に入る入力は外界の光の強さに関係なく，セクターによつて変調された光束だけによる電圧になる

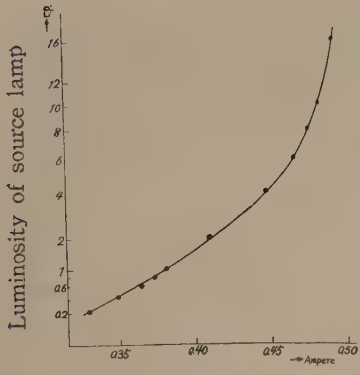



Fig. 3. Characteristics of the source lamp

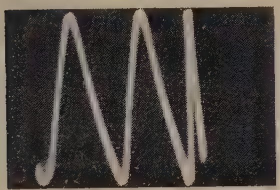


Fig. 4. Form of the sectioned light

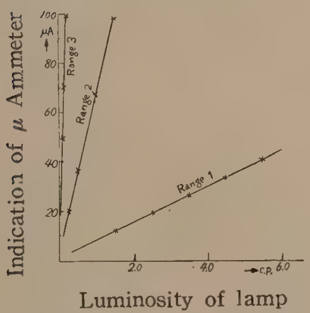



Fig. 5. Characteristics of the indicator

のが此の装置の特徴である。此の濁度計を写真暗室に入れて測定した値と，太陽の照つている野外（約10000ルックス）で測定した値との差は１％以下であつた事から外界の明るさの影響は殆んど無視してもよいと云う事がわかつた。但し海で測定した場合水面直下では波による光のちらつきが大きいのでそれによる影響は可成り大きかつた。然しそれも７m以上深くなるとほとんど無視出来る程度になる。又この光束を変調する方法は増巾が非常にたやすく出来ると云う利点がある。

光源用ランプ（5）の電流と光度との関係をFig. 3に示す。横軸を電流の平方根目盛として目盛つても曲線は直線にはならなかつた。モーターの廻転数は大体33*cycle/sec*であるが，約±1～2*cycle/sec*の変動迄はほとんどメーターの続みに変化を与えない。光束のセクターによる変調をオッシログラフで見るとFig. 4のようになつていて，ほとんど正弦波である。光源の光度と測定部のメーターの続みとの関係は，Fig. 5の様に直線で表はされる。それでメーターの示す値は光電管に受けた光に比例するものと考えてさしつかえない事がわかつた。この特性は温度によつて極くわづか変るようであるがこの点については目下研究中である。

## 観測及び考察

昭和28年７月29，30日の２日間本学部練習船おしよろ丸で石狩湾の海洋観測を行つた際，この濁度計を用いて濁りの測定も行つた。観測点はFig. 6に示す18地点であるが，9，14，15，16の４地点は濁度計が故障のため測定出来なかつた。測定結果のうち典型的なものをFig. 7の（a）（b）（c）（d）に示した。この図で縦軸は深さを，横軸は塩分及び濁度計のメーターの続みを表わす。濁りを示すのに消滅係数を用いる方法もあるが此の装置の測定からそれを計算出来るまでの基礎実験を行つていないので，此処ではとりあえずメーターの続みをそのまゝ記録した。但し此の装置ではメーターの読みの逆数が

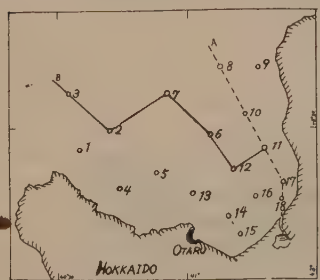



Fig. 6. Location of stations

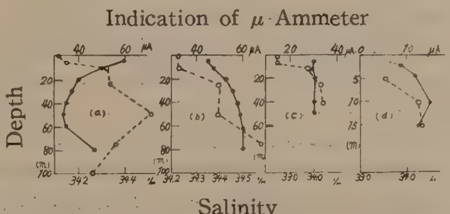



Fig. 7. Vertical distributions of the turbidity and the salinity

濁りの目安となる様に出来ている。従つてメーターの読みはそのまゝでは透明度を表わすこととなる。(a)は第1観測点,(b)は第3観測点,(c)は第12観測点,(d)は第18観測点の塩分及び濁度の垂直分布図である。曲線(a)は中層50m附近が,表層又は低層に比べて濁つていることを示している。この事は,塩分の垂直分布曲線からもうかがわれるように50m層に特別な水塊があることを示すものゝようである。曲線(b)は一番外洋に近い観測例で,深さが増すと共に単純に澄んで来ている。(c)は石狩川の水が海中を流れている所に近く,河水の影響と外洋水の影響を同時に受けているのであらうと思われる。海洋観測の結果も複雑な温度,塩分の分布を示し,色々な水塊の混合が行われているのではないかと思われる。ところが濁度の方は深さによつてほとんど変化していない。こゝは比較的浅い場所で,海底からの懸濁物の上昇,或は河水によつて運ばれた懸濁分の沈下等が原因になつて急速に濁りの混合が行われているものと推測される。曲線(d)は石狩川の河口に一番近い地点で測られたものであつて,こゝでは河の水が1〜2mの薄い層となつてかなり広く海面を覆つて流れているのが船の上から見る事が出来たが濁度計の観測の結果にもそれが良く現われている事がわかる。底が少し濁つている事は海水の流れや其他の原因によつて引き起された擾乱によつて底の沈澱物が舞い上つたものではないかと思われる。

同年8月8日には,小樽高島沖2マイルの地点で潜水球くろしお号による観測が行われた。その時錨によつて固定された母船おしよろ丸上から同時に濁度計を下して濁度の時間的変化を測定した。Fig. 8にその結果を示す。図の(a)では縦軸が深さを,横軸はメーターの読みを表はし,(b)では縦軸がメーターの読みを横軸は測定時刻を表はす。又(b)の曲線は深さ5m,30mの各深さに於ける濁度の時間的変化を示している。此の観測は一日間より行えなかつたのではつきりした事は云えないが,濁度はほゞ一日周期で変化していてこの変化は潮流と関係あるものと思われる。20m層と30m層の変化を比べると澄んで来る時は中層が急で,上層や下層は緩漫であり,又濁つて来る時は底層,中層が比較的早いことがわかる。澄んで来る時というのは中層の水塊が沖から急に張り出して来る時で,やがて潮流が停止して次に中層水が沖に引き始めると下層を這う水によつて起される擾乱によつて下層が早く濁り始めるのではないかと思われる。底層の擾乱による海底懸濁物の上昇はこの研究と同時に行われた Nisizawa, Fukuda & Inoue (1954) のくろしお号内よりの観測によつても見られている。此の観測中のある時刻に受光部の前に黄と青のフイルターを付けて濁度を測定したところFig. 9に示す如く濁度の垂直分布曲線が波長によつて違う事がわかつた。此の結果から,深さ22m附近には黄色い光を良く通し,30m附近には青い光を良く通す層が存在する事がわかつた。然し残念ながら波長を変えた測定

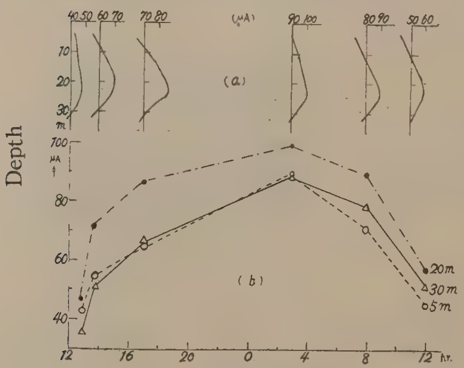



Fig. 8. (a) Vertical distributions of turbidity at each time interval 2 miles off Takashima (b) Diurnal changs of the turbidity.

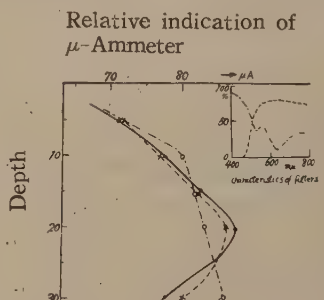



Fig. 9. Distribution of the turbidity to the filtered light by the yellow filter and blue one

は一度しか行えなかつたので，これ以上論ずることは出来ないが，此の様に波長によつて濁度の特性が違う事を利用して水質の分析をする事も可能であるかも知れない。

石狩湾で行つた海洋観測の資料から25m層に於ける塩分及び濁度の水平分布を描いてみるとそれぞれFig.10，Fig.11のようになる。この図をみると塩分と濁度の間には密接な関係があるようで，例えば塩分分布の方から推定される外洋水の張り出しが濁度分布の方でも同じような形で窺われる。これは濁度が水塊の指標と考へられるような例であるが然しそうでない場合もある。沿岸の海域ではむしろ一般には濁度と塩分の分布が一致しない事の方が多い。その原因はいろいろあると思うが，その中でも濁りを構成するいろいろの因子が常に水塊に保存されているとは限らず，比較的大型の微粒子は沈降し，又急激な擾乱によつて海底推積物質が上昇し濁りが水塊に新に添加されると云うような事情が主なるものであらう。試みにFig.6のA線及びB線に沿つた垂直断面について塩分及び濁度の分布を描いてみるとそれぞれFig.12，Fig.13及びFig.14，Fig.15のようになる。A線の断面では




Fig. 10. Distribution of the salinity at 25 m layer




Fig. 11. Distribution of the turbidity at 25 m layer

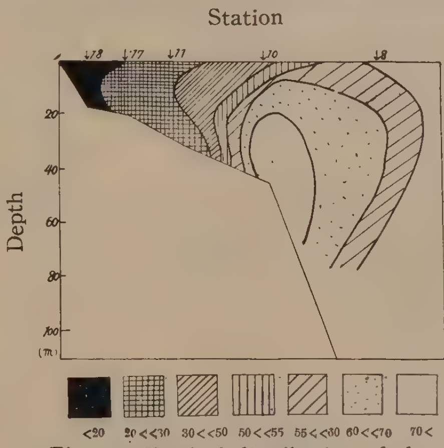



Fig. 13. Vertical distribution of the turbidity at section A

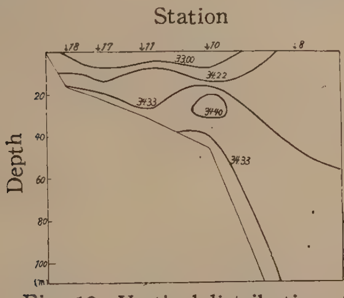



Fig. 12. Vertical distribution of the salinity at section A

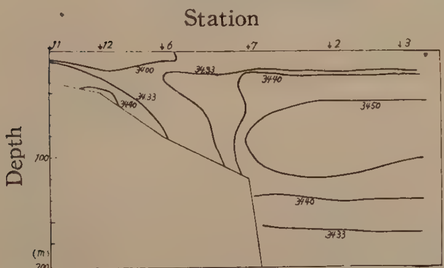



Fig. 14. Vertical distribution of the salinity at section B

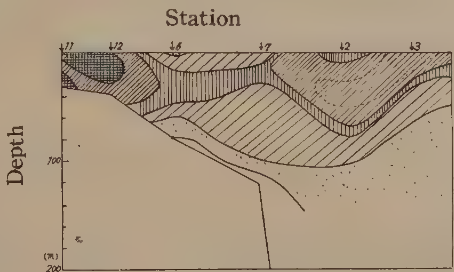



Fig. 15. Vertical distribution of the turbidity at section B

Fig.12にみられるように外洋水が海底を這い上つて沿岸の測点18近くまで迫つている。河水は10m以浅の表層を流れて測点10近くまで低塩分の断面を見せている。ところが濁度分布Fig.13をみると，その等濁度線はこの流れの方向にやゝ直角の弧状をなして流れの方向に次第に弱まつてゆく。これは河水中にある大型微粒子の沈降を示唆しているようである。中層近くやゝ澄んでいるのはこゝの層に澄んだ水の流れがあるものと思われる。次にB線の断面を調べて見る。Fig.14の塩分分布からは，測点11，12，6の間には上層に河水の断面が，又7，2，3の測点の中層に沖合高鹹水の断面が見えている。ところがFig.15の濁度分布を見ると，沿岸では河水の斜下方に向つて濁りの拡散が見られ又沖合測点2近くで下方高鹹水域え濁りの沈降がみられる。

濁度の測定を行うと同時にセツキー板による透明度の観測も実施した。Fig.16はこの両者の関係を示したものである。図中の○印は前述の石狩湾での観測，×印は昭和28年9月20日に行つた津軽海峡での観測値である。透明度はセツキー板の上層の各位置の濁度の積分された効果として示されるもので，更に厳密にはセツキー板の下層の濁度も若干関係する筈である。実際に濁度計で観測してみるとFig. 7の例の如く表層でも濁度垂直分布は一様ではない。Fig.16に用いた濁度計による測定値は，透明度として示された深さの丁度半分の深さに於ける値である。Fig. 16でみると透明度と濁度計の読の間には正の相関があることは確かであるが，厳密にはこの両者が簡単な一義的の関係で示されるものではなさそうである。この理由は濁度及び透明度の本質に関する究明を俟たねば説明することが出来ないものと思われる。

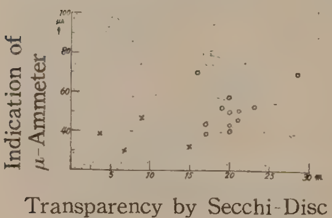



Fig. 16. Relationship between the transparency by Secchi-disc and the indication of turbidity-meter

この研究は潜水探測機くろしお号による潜水探測漁場調査の一環として行われたもので，研究費の一部は水産庁の補助金より支給された。この研究を実施するに当り観測母船として多大の便と協力を与えられた北大水産学部練習船おしよろ丸船長三島清吉氏外乗組員諸氏に厚くお礼申し上げる。又一般海洋観測を担当しそれによつて得た貴重な資料を貸与され，沿岸流動の解析に有益なる示唆を与えられた北海道大学水産学部助教授小藤英登氏に深甚なる謝意を表する次第である。

## 文　　献

Inoue, N., Sasaki, T. & Oaki, R. (1952). *Jour. Sci. Res. Ins.* **46**.

Jerlov, N. G. (1953). *Rep. Swed. Deep-Sea Exp.* **3** (Phys. & Chem. 3).

Joseph, V. J. (1949). *Deut. Hydro. Zeit.* **2** (5).

Wyrtki, V. K. (1950). *Kieler Meeresforsch,* **7** (2).

Nishizawa, S., Fukuda, M. & Inoue, N. (1954). *Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ.* **5** (1).

# レーダー監視に依る漁具の流失防止に就て

石 田 正 巳・鈴 木 恒 由
（北海道大学水産学部航海測器学教室）

# A Report on Prevention of Fishing Gear from Being Washed away by Means of Radar Watching

Masami ISHIDA and Tsuneyoshi SUZUKI
*Faculty of Fisheries, Hokkaido Univertity*

**Abstract**

The echo from a corner reflector mounted on fishing gears shows clearly its position relative to the mother vessel in the radar scope.

Therefore sudden movement of fishing gears can be noted on the scope and adequate measures taken so as to prevent them from being washed away.

The corner reflector used is known as sn octahedral solid type cluster and is constructed by mounting three square plates all intersecting at right angles and forming eight separate corners. (Fig. 1)

The teflector is mounted so that one corner forms the base and one the top (Fig. 2), the remaining six corners provide a high intensity signal over six 40 arcs.

The material is hard aluminium and the dimensions are 30 cm (one) or 15 cm (the other) side and 1 mm thickness. (Fig. 1.)

Experiments were successfully performed concerning a such reflector mounted on drift nets for salmon-fishing in the Northern Ocean May 1953; the maximum range at which the echo was received was adout 3 miles.

## 1. 緒 言

流網，延縄等の漁具の流失を防止するために，之等の漁具に小型堅牢で而も良好な反射能を持つた所謂 Corner Reflector を装備して自船のレーダースコープ上で常にそれよりの反射映像を監視することに依り，漁具と自船との相対位置関係を確めて置き，若し流失等に依る漁具の急激な移動がある様な場合には直ちに応急処置をとつて漁具の流失防止を図らうといふ方法を試みてみた。実験の結果，漁撈の能率化と漁具流失に依る漁具資材損失の軽減の面から，実用可能な技術であると考へられるので，尚改良すべき点は多々あるが簡単に報告したい。

## 2. 漁具に装備すべき Reflector に就て

本方法に於いては漁具に装備すべき Reflector が一番問題になるのであるが，海上で使用する場合次の条件が満足されるものでなければならない。

（i） 性能的条件　　実際上最大探知距離が2浬以上で，且波浪のため Reflector が動揺傾斜を生じても反射波強度が，そのため反射映像の弁別困難な程変化しないこと。即ち指向性や装備高さ等も予め考慮すること。

（ii） 機械的条件　海上では相当風圧が大きいからそのため変形，破損の恐れの極力少いこと。

（iii） 化学的条件　海水に浸される場合も考慮して，腐蝕に耐へ，反射能の劣化の生ぜぬこと。

所で先づ性能的条件から，海上での探知では，相当程度の動揺傾斜を不可避と考へて，悪条件の時でも2浬程度の探知距離が要求される。動揺傾斜の不安定さを考へると，無指向性が望しく，そのためにはReflector の球体なることが簡単な解決であるが，ある反射能を持たせるためには大いさがずつと大きくなることが避けられない。[1] それである大いさの制限から，今回は fig. 1 の如き普通用いられるソリッド型のものを使用した。この型はFig. 3 の如き水平指向性を有するが実際問題としては，Reflector と電波の到来方向とは相対的に位置関係を変化して居り，且スコープの残像性からその指向性は，さしてクリテカルには現はれない。使用した Reflector は一辺 a＝30 cm のものと，a＝15cmのものとであつて，（Fig. 1）最大反射能を与へる方向から見た場合の等価断面積（Effectve cross section, Radar cross section）は $\sigma_{max}=\frac{4}{3}\frac{\pi a^4}{\lambda^2}$ で与へられるから[2] 現用の船用レーダーの波長 $\lambda$＝3.2 cm に対しては，a＝30 cm 及び a＝15 cm の場合に夫々 $\sigma_{max}$＝33.1 m² 及び $\sigma_{max}$＝2.05 m² となり，小型船舶の等価断面積と略同様の反射能を有することが分る。[3]

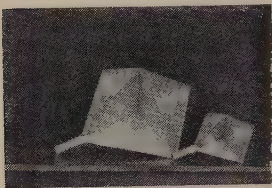


Fig. 1.　試作したReflector

又レーダーの最大探知距離は次の諸要因で決定される。即ち

（I） レーダー装置の特性。

（II） レーダー装置（スキヤンナー）と反射物標の海面に対する相対的位置関係。

（III） 反射物標の反射特性。

（IV） 気象条件に依る伝播特性。

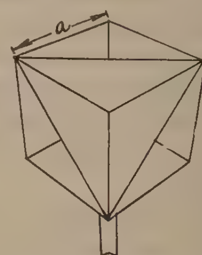



Fig. 2.　Reflector の寸法

以上の中（IV）はその時の気象条件に応じて補正をなすものとして，（I），（II），（III），の要因を考慮に入れた場合の最大探知距離は，次式で与へられる。[4]

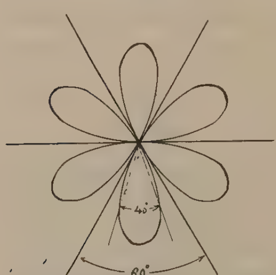



Fig. 3. Reflector の水平指向特性

$$R_{max}=2.7\left(\frac{P_t\,\tau\sigma}{S_{min}}\right)^{1/8}\left(\frac{A}{\lambda}\right)^{1/4}\left(\frac{H_a\,H_t}{\lambda}\right)^{1/2}\cdots\cdots(1)$$

但
- $P_t$ ： 送信出力。（尖頭値）
- $\tau$ ： パルス幅。
- $S_{min}$ ： 最小受信感度。
- A ： スキヤンナー開口面積。
- $\lambda$ ： 波　長。
- $H_a$ ： スキヤンナーの高さ。
- $H_t$ ： 反射物標の高さ。
- $\sigma$ ： 反射物標の等価断面積。

尚一式は $\frac{2\pi H_a H_t}{\lambda R_{max}}<1$ 即ちスキヤンナー高さと反射物標の高さが極めて低いか，又は遠距離の場合で所謂海上反射波と直接波との合成干渉の結果生ずるロープの中最低ロープが低い角度で生じている場合である。（1）式から分る如く反射物標の等価断面積 $\sigma$ を約16倍すると（本実験に使用した Reflector では a＝30 cm の方がa＝15cmの方の約16倍）探知距離は約40％増大する筈であり，又反射物標の高さを2倍にしても約40％の増大がある筈である。反射物標の大いさと高さが，探知距離に及ぼす影響に就いては，函館港に於いて行つた予備実験に関して報告した通り，[4] 大凡の傾向は確められた。

次に機械的条件であるが，風圧の影響を避けるために反射能をある程度犠牲にしても，金網型が良い様に

考へられたが，金網の厚みが可なり厚くなければ，かへつて変形を来して不適当な様である。

又海水に依る腐蝕を防ぐために，Reflector の表面に薄く防蝕塗料を塗るのが望ましく，塗膜が 0.01 mm 程度であれば反射能を害することはない。

## 3. 実験装置とその結果

北洋に於ける鮭鱒の流し網の実習に之を用いて見たのであるが，練習船おしよろ丸では流網 約 30 反を用いたので，網は本船には締結せず，普通のダルマ灯を装備して離して置いた。網の両端には，Reflector を Fig. 4 の如く，約 3 m の高さになる様に装備した。おしよろ丸のレーダーは KELVIN HUGHES 社の Type 2 であつて，その諸特性は Table 1 の如きものである。

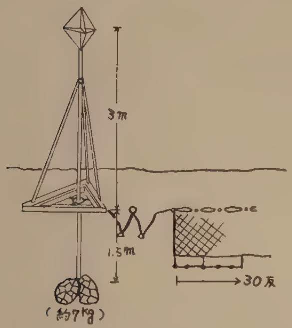


Fig. 4. Reflectorの漁網への装備

Table 1

| レーダー種類 / 諸特性 | KELVIN HUGHES 2 |
|---|---|
| 送信出力(kw)(尖頭値) | 7 |
| 波　長 (cm) | 3 |
| パルス幅 ($\mu$ sec) | 0.2 |
| パルス繰返数 (C. P. S.) | 2000 |
| 方向分解能 (度) | 1.6° |
| 距離分解能 (碼) | 40 |
| 水平指向性 (度) | 1.6° |
| 垂直指向性 (度) | 30° |
| アンテナ回転数(R.P.M.) | 30 |
| 空中線型式 | 英国型水平偏波 |
| 空中線開口面積 | 約0. 16 m² |

探知距離は a=30 cm のもので約3浬，a=15cm のもので約2.2浬程度であつた。投網してから常にレーダーのスコープ上で船と網の位置関係を監視して居り，間隔が約2浬位になると船は網に接近して行つて，網を見失ふことのない様にした。北洋はガスが多いので，ダルマ灯の識別よりはレーダーの監視の方が合理的で，又その探知距離も大きい。実際にガスの多い時で，而も潮流の関係で船と網との相対関係が意外に早く離れてしまふこともあるが，その場合，本方法の有効さは実際に確められ，網の流失を防止し得たことを実際経験した。

北洋に於いては波浪が大きいので，Reflector の動揺傾斜が甚しいので，スコープ上の映像が明滅する場合もあつたが，実用上は十分使用出来る。スコープ上の一例を Fig. 5 に示す。



Fig. 5. スコープ上の映像例

## 4. 結　　言

漁網へ装備する Reflector に関しては実用上最適なるものゝ設計に関してはまだ色々問題があるが，漁網流失防止に有益なことが確認出来た。本方法はレーダーを必要とするので，実際の漁船の現状では望み得ないが，調査船，監視船等が夫々漁船群を分担して，監視して事故の時，無線連絡によつて対策を講ずるのも一方法であらう。本実験はおしよろ丸の三島船長並乗組員諸氏の御協力を得てなされたもので，玆に厚く謝意を表する。又実験の労を担当した竹本一郎君，佐野典達君の熱心な協力も謝する。尚本実験には，北海道庁の科学研究補助費が出された。玆に附記して謝意を表する次第である。

## 文　　献

1) Robertson S. D. (1947). *Bell. System. Tech.* **26** (4), 852—869.

2) Ridenour L. N. (1947). *Radar System Engineering.* 68 p. New York & London; McGraw-Hill Co.

3) Hall J. S. (1947). *Radar Aids to Navigation.* 358 p. New York & London, McGraw-Hill Co.

4) 石田・鈴木 (1953). 航海学誌 **2** (9), 1—4.

# 噴火湾に於ける定置網の研究

## 第3報　各部側張の重要寸法について

川崎毅一・西山作蔵・中村秀男
（北海道大学水産学部漁業学教室）

# Studies on the Fixed Nets in Funka-Bay

## 3. On the dimension of principal parts

Giichi KAWASAKI, Sakuzo NISHIYAMA and Hideo NAKMURA
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

### Abstract

The materials used in construction of the fixed nets in Funka-Bay are more durable to the usual currents of those sea districts than is really necessary.

The writers wish to find the suitable fixed nets which are durable in respect to immerse-current, not from the stregth of material, but from the planning of the construction and the method of fixing.

Accordingly, the writers have inquired first in to the dimention of principal parts of the fixed nets in Funka-Bay.

The results obtained were summarized as follows.

| | | | |
|---|---|---|---|
| Length of HAGUCHI, | y, depth of water | x, | $y=0.834x+7.97$ |
| | length of NOBORIAMI | x, | $y=0.572x+12.54$ |
| | length of DOBARI | x, | $y=0.856x+2.04$ |
| Length of SHOGIAMI, | y, depth of water | x, | $y=0.23x+1.3$ |
| | length of DOBARI | x, | $y=0.226x$ |
| Length of DŌBARI, | y, depth of water | x, | $y=0.813x+11.94$ |
| | length of HAGUCHI | x, | $y=0.917x+6.14$ |
| Length of NOBORIAMI, | y, depth of water | x, | $y=1.132x+2.24$ |
| | length of HAGUCHI | x, | $y=1.245x-4.73$ |
| Length of UNDOJŌ, | y, depth of water | x, | $y=1.177x$ |
| | length of NOBORIAMI | x, | $y=1.009x-1.25$ |
| | length of HAGUCHI | x, | $y=1.268x-6.4$ |
| Length of HAKOAMI, | y, depth of water | x, | $y=0.773x+10.4$ |
| | length of HAGUCHI | x, | $y=0.878x+4.68$ |
| | length of DŌBARI | x, | $y=0.898x+1.03$ |
| | length of NOBORIAMI | x, | $y=0.57x+13.1$ |

## 1. 緒　　言

噴火湾に於ける定置網に関しては，種々の見地から検討が加へられ，多くの研究成果が報告されている。

さきに筆者等は首題の問題を取上げ，主として急潮に依る損害の防止と漁具資材の節約に関する基礎的実験を進めて来た。

即ち先報に於て，当海区に敷設されている定置網は，相当強力な構成がなされており，平常時の海況に徴して，必要以上と思料される節も少くないことと，破損の防止を目的として斯る構成がなされているとしても曾てのキテイ台風（1949）に依る急潮に対しては，その悉くが甚大なる被害の対象となつていることを述べ且斯様に急潮等に対峙し得る定置網の設計は，単に構成諸材料を増強せしむる事のみに依り，解決されるものではない事に言及した。

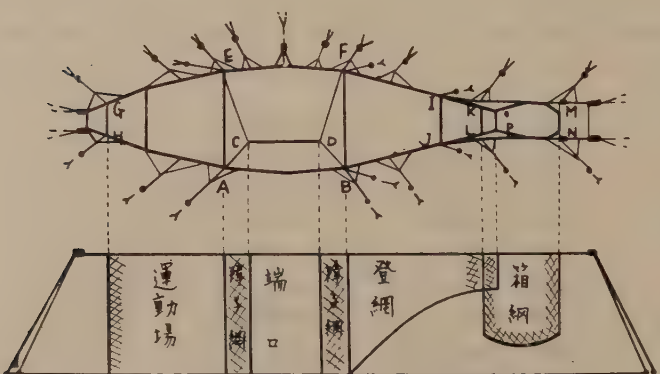
元来定置網それ自体は，規模が大きく，且尨大たる漁具資材を必要とするものであるため，諸資材の長期に亘る使用，急潮等に依る被害の防止方法の発見，及び対象魚の習性を勘案した網型の改良等で所要資材単位量に対する漁獲割合の向上を図ることは，今日最も緊急な課題となつている。

本報は当海区に於て実際に定置網の設計がなされる場合，各部側張の長さが，如何ような基準の下に決定されているかについて検討して見た。

## 2. 資料及び方法

当海区に敷設されている定置網は，分類的には台網類に属する直行網（瓢網），及び落網類に属する落網の2種であるが，漁業上重要なるものは総て後者に属するものが多く，通称秋網と呼ばれている。

本報は此の秋網を対象とし，その各部側張の重要寸法について，検討して見た。資料は総て郵便調査に依り第1表に示す28ヶ統につき，その実態を調査して計算の基礎とした。尙各部側張の名称は第1図に準拠した。




AB: 羽口の長さ
AC:BD: 障子網の側の長さ
EF: 突当側の長さ
EG:AH: 運動場側の長さ
GH: 運動場横切の長さ
FI:BJ 登網側の長さ
KO:LP: 内登網側の長さ
KL: 心張の長さ
AE:BF: 胴張の長さ
KM:LN: 箱網側の長さ
MN: 箱網横切の長さ

Fig. 1. The name of principal parts

## 3. 経 過

従来に於ける定置網各部側張寸法の決定は，主として網代水深にその基準がおかれているようであるが，各部側張それぞれについて検討して見れば，必ずしも網代水深のみが適当な基準とされている訳でもなく，寧しろ各部側張それぞれの関連性が可成良く認められる。

先づ網代水深について見れば各部側張とも可成の関連性が認められ，図示すれば第2図～第7図の如きものである。

亦各部それぞれの関連性を見れば，第8図～第17図に示す如くである。

即ち対象とした定置網の羽口の長さは，その悉くが突当り側の長さに等しく，登網側の長さ及び胴張の長さに対しては第8図～第9図に示す如くである。尙網代水深に対しては前記第2図に示した。

Table 1. The principal parts survey

| N / n | Depth of water | Length of HAGUCHI | Length of TUKIATARI | Length of SHOGIAMI | Length of DOBARI | Length of NOBORIAMI | Length of GINBARI | Length of HAKOAMI | Length of HAKOAMI YOKOKIRI | Length of UNDOJO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 8 | 14 | 14 | 3 | 15 | 10 | 4 | 15 | 6 | 15 |
| 2 | 8 | 14 | 14 | 3 | 15 | 15 | 4 | 13 | 5 | 10 |
| 3 | 22 | 25 | 25 | 8 | 27 | 20 | 9 | 25 | 8 | 18 |
| 4 | 22 | 30 | 30 | 7 | 25 | 30 | 6 | 30 | 8 | 26 |
| 5 | 25 | 30 | 30 | 5 | 35 | 25 | 13 | 25 | 20 | 25 |
| 6 | 25 | 30 | 30 | 5 | 35 | 40 | 8 | 35 | 10 | 40 |
| 7 | 25 | 30 | 30 | 8 | 40 | 25 | 7 | 35 | 15 | 20 |
| 8 | 26 | 30 | 30 | 5 | 35 | 40 | 13 | 35 | 10 | 40 |
| 9 | 26 | 30 | 30 | 5 | 35 | 25 | 13 | 25 | 20 | 25 |
| 10 | 28 | 30 | 30 | 8 | 40 | 25 | 7 | 35 | 15 | 20 |
| 11 | 28 | 30 | 30 | 10 | 33 | 35 | 8 | 30 | 10 | 35 |
| 12 | 28 | 30 | 30 | 10 | 37 | 39 | 8 | 30 | 10 | 35 |
| 13 | 30 | 30 | 30 | 8 | 35 | 40 | 8 | 35 | 10 | 37 |
| 14 | 33 | 30 | 30 | 10 | 40 | 45 | 10 | 40 | 12 | 50 |
| 15 | 33 | 40 | 40 | 10 | 35 | 40 | 8 | 40 | 10 | 38 |
| 16 | 35 | 40 | 40 | 9 | 45 | 43 | 10 | 40 | 12 | 38 |
| 17 | 35 | 35 | 35 | 10 | 38 | 40 | 10 | 36 | 10 | 38 |
| 18 | 38 | 40 | 40 | 10 | 47 | 45 | 10 | 40 | 12 | 45 |
| 19 | 38 | 40 | 40 | 10 | 40 | 45 | 10 | 40 | 28 | 50 |
| 20 | 40 | 40 | 40 | 10 | 50 | 40 | 10 | 40 | 12 | 40 |
| 21 | 40 | 42 | 42 | 12 | 45 | 45 | 10 | 40 | 14 | 42 |
| 22 | 41 | 40 | 40 | 10 | 40 | 50 | 10 | 40 | 28 | 50 |
| 23 | 41 | 45 | 45 | 12 | 45 | 40 | 12 | 40 | 10 | 45 |
| 24 | 41 | 45 | 45 | 12 | 45 | 45 | 20 | 40 | 12 | 40 |
| 25 | 42 | 45 | 45 | 10 | 46 | 65 | 10 | 40 | 16 | 55 |
| 26 | 42 | 45 | 45 | 10 | 46 | 55 | 20 | 50 | 25 | 65 |
| 27 | 45 | 40 | 40 | 10 | 40 | 52 | 12 | 40 | 25 | 52 |

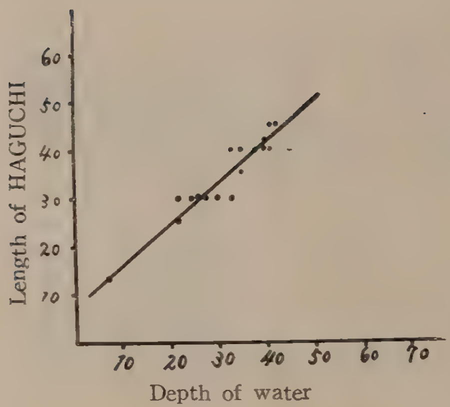


Fig. 2. Length of HAGUCHI

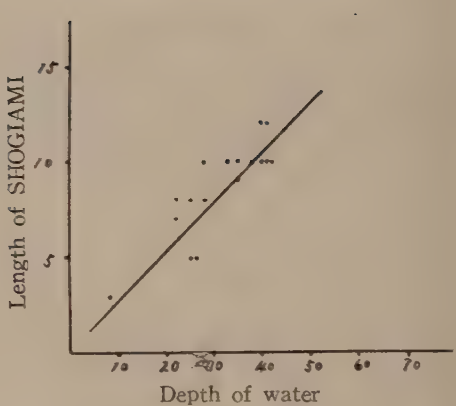


Fig. 3. Length of SHOGIAMI

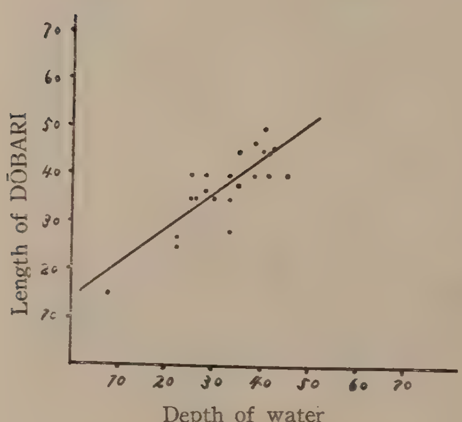


Fig. 4. Length of DŌBARI

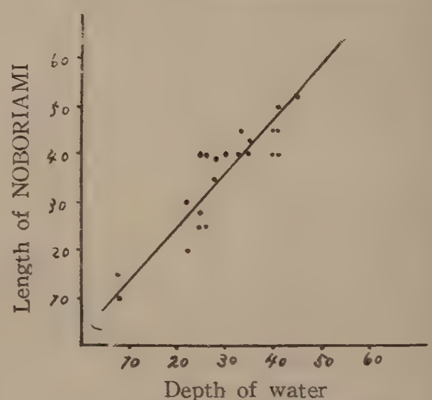


Fig.5. Length of NOBORIAMI

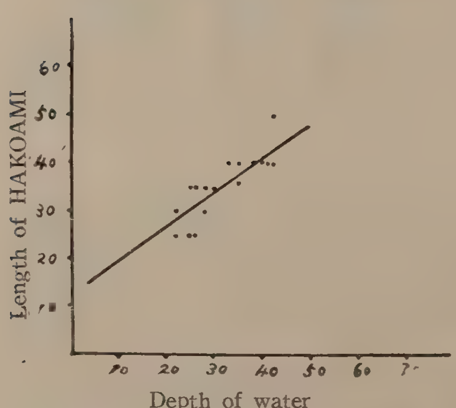


Fig. 6. Length of HAKOAMI

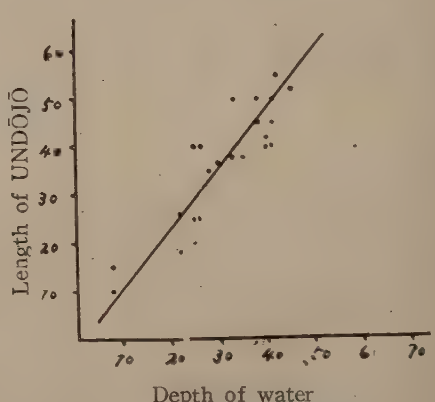


Fig. 7. Length of UNDŌJŌ

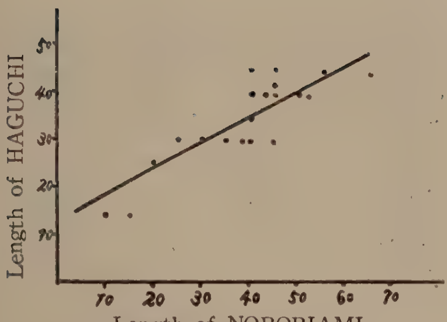



Fig. 8. Length of HAGUCHI (for NOBORIAMI)

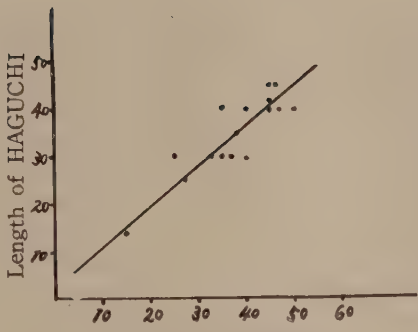



Fig. 9. Length of HAGUCHI (for DŌBARI)

障子網側の長さは，大約胴張の長さの⅓に稍々短く第10図に示す如くである。尚網代水深に対しては前記第3図に示した。

胴張の長さは，羽口の長さに関連が見られ，第11図の如くである。尚網代水深に対しては前記第4図に示した。

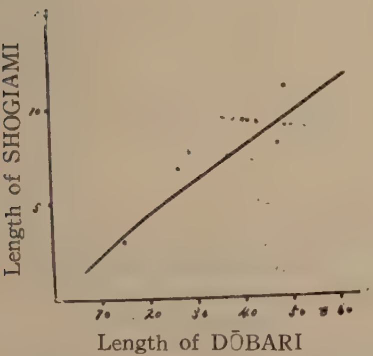



Fig. 10. Length of SHOGIAMI (for DŌBARI)

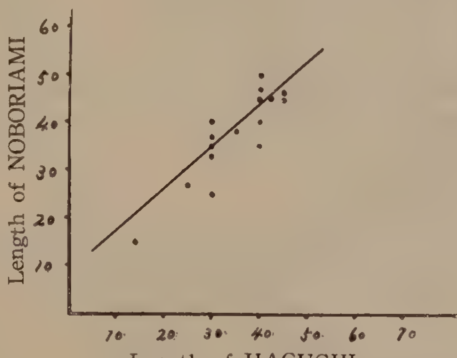



Fig. 11. Length of DŌBARI (for HAGUCHI)

心張の長さは，各部に対し特に目立つた関連性は見出し得ないが，胴張の長さに依り大約次の如くである即ち胴張の長さ25～30間では6～8間，30～40間では10～13間の範囲である。

登網側の長さは，定置網設計上最も重要な基点となるもので，網代水深に対しては最も関連が深く前記第5図に示す如くである。尚羽口の長さに対しては第12図に示す如くである。

運動場側の長さは登網側の長さ及び羽口の長さに関連が見られ，第13図～第14図に示す如くである。尚網代水深に対しては前記第7図に示した。

箱網側の長さは，羽口の長さ，胴張の長さ及び登網側の長さとも関連が見られ，第15図～第17図に示す如くである。尚網代水深に対しては前記第6図に示した。

箱網横切の長さは一定の標準が定め難く，実際には操網上の利便を考慮して設計されている。

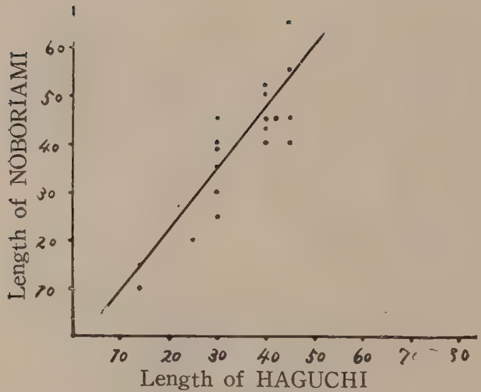



Fig. 12. Length of NOBORI AMI
(for HAGUCHI)

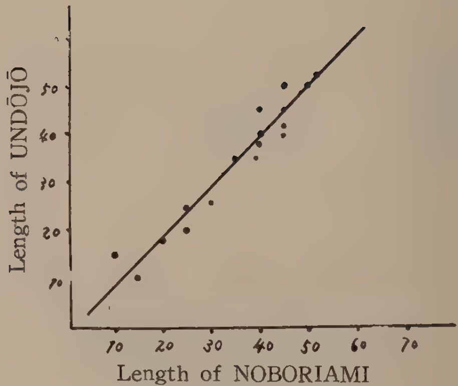



Fig. 13. Length of UNDŌJŌ
(for HAGUCHI)

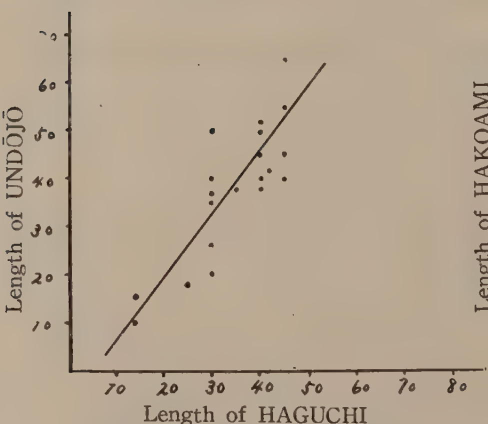



Fig. 14. Length of UNDŌJŌ
(for HAGUCHI)

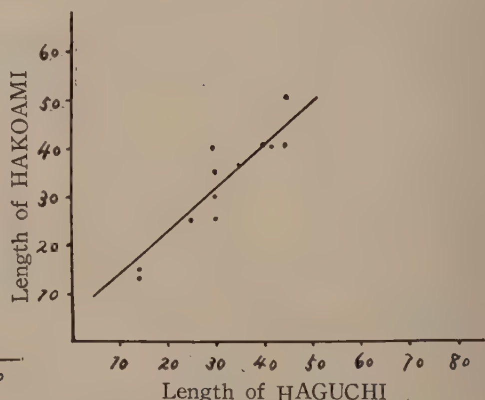



Fig. 15. Length of HAKOAMI
(for HAGUCHI)

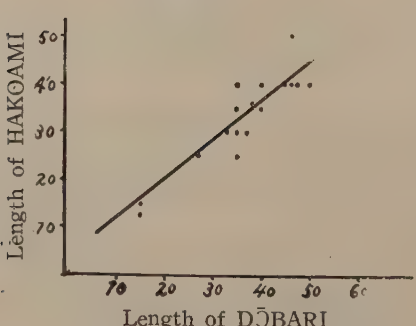



Fig. 16. Length of HAKOAMI
(for DŌBARI)

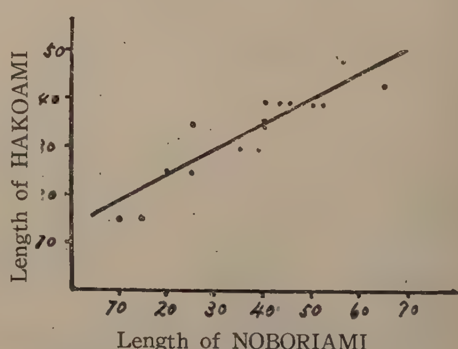



Fig. 17. Length of HAKOAMI
(for NOBORIAMI)

## 4. 摘　　　　要

前述の如く各部側張の重要寸法は，網代水深及び各部側張それぞれに深い関連を有している。今是等の各項につき実験公式を求め，摘記すれば次の如くになる。

| | | | |
|---|---|---|---|
| 羽口の長さ | y | 網代水深をxとすれば | $y=0.834x+7.97$ |
| | 又 | 登網側の長さをxとすれば | $y=0.572x+12.54$ |
| | | 胴張長の長さをxとすれば | $y=0.856x+2.04$ |
| 障子網の長さ | y | 網代水深をxとすれば | $y=0.23x+1.3$ |
| | 又 | 胴張の長さをxとすれば | $y=0.226x$ |
| 胴張の長さ | y | 網代水深をxとすれば | $y=0.813x+11.94$ |
| | 又 | 羽口の長さをxとすれば | $y=0.917x+6.14$ |
| 登網側の長さ | y | 網代水深をxとすれば | $y=1.132x+2.24$ |
| | 又 | 羽口の長さをxとすれば | $y=1.245x-4.73$ |
| 運動場側の長さ | y | 網代水深をxとすれば | $y=1.177x$ |
| | 又 | 登網側の長さをxとすれば | $y=1.009x-1.25$ |
| | | 羽口の長さをxとすれば | $y=1.268x-6.4$ |
| 箱網側の長さ | y | 網代水深をxとすれば | $y=0.773x+10.4$ |
| | | 羽口の長さをxとすれば | $y=0.878x+4.68$ |
| | | 胴張の長さをxとすれば | $y=0.898x+1.03$ |
| | | 登網側の長さをxとすれば | $y=0.57x+1.31$ |

尙心張の長さは特に目立つた関連が見られず，大約胴張の長さ25〜30間で6〜8間，30〜40間で10〜13間の範囲である。

箱網横切の長さは一定の標準が定め難く，実際には操網上の利便を考慮して設計されている。

以上述べた実験公式は総て一次式であるが，取扱つた各関係の全部が一次式として合理的であるか否かについては，多少問題を残しているが当海区に敷設される定置網の範囲に於ては大なる差異もないものと考へられる。

## 5. 結　　　　言

当海区に敷設される定置網について，実際設計上の基点が明らかになつたが，各部側張それぞれの関連性については，問題が残されており，亦郵便調査に依る資料の蒐集にも不備な点が多いので，何れ実地調査の上さらに検討を加えたいと考へている。

## 文　　　　献


(1) 川崎・西山・中村 (1952). 噴火湾に於ける定置網の研究，予報　主として急潮に依る漁網の被害について，北大水産彙報 3 (2).

(2) 日本定置漁業研究会 (1944). 定置漁業とその設計.

(3) 宮本 (1952). 定置網漁論.

(4) 畑村・津村・奥野・田中 (1952). スネデカー統計的方法.

# 北海道区に於ける鯖巾着網漁業の研究

## 第2報　鯖巾着網及び揚繰網の構成に就て

川崎 毅一・西山 作蔵・中村 秀男
（北海道大学水産学部漁業学教室）

# Studies on the Fishery of Mackerel by Purse Seines in the Sea near Hokkaido

## 2. Construction and operation of the purse seines and the AGURI nets (mackerel ring nets)

Giichi KAWASAKI, Sakuzo NISHIYAMA and Hideo NAKAMURA
*Faculty of Fisheries, Hokkaido University*

**Abstract**

Lately the writers have been making researches on the materials and constsustion of purse seines and AGURI nets and on the methods of fishing with them. In this paper, an attempt is made to compare the operation of the two types as affected by their construction.

The purse seines are operated on a large scale and theis sinking speed is considerably large, so the netting is often broken at the fishing ground in shallow-sea by the winding of the purse line around the bottom of the net, or by creeping into the sea bottom.

But in deep sea, the rate of fish catch by the purse seines is very good because of the fact that the purse line runs through the bridle rings of the nets, so the speed in enveloping and catching a group of fish is very fast, and the raising of the nets can be easily done by mechanical power (net roller)

The AGURI nets are operated on a comparatively small scale, and breaking of the net occurs seldom, so the rate of fishing catch is good at the fishing ground in shallow-sea.

But at the deep sea fishing ground, the AGURI nets seem to miss the good opporttunity of taking fish occasionally because of a vertical movement of the mackerel, resulting from the fact that such nets are in need of considerable Hopping (nets hanging) and the sinking speed is less than that of the purre seiness. Also the purse line consists of two parts, therefore the speed in surrounding and catching the fish is slower than that of the purse seines.

### 1. 緒　　言

本邦に於ける巾着網漁法が鰹，鮪，鯖等，所謂鯖型魚類の漁獲に使用されるに至つたのは，明治30年頃岩手県宮古湾に於いて，米国式巾着網を研究的に操業したのが嚆矢であり，更に大正7～9年に渉り山口県水産試験場，日本水産，大洋漁業等が朝鮮海区で，発動機付漁船の高速を利用した片手廻し漁法を試み，在来の無動力式揚繰網は非常に圧迫を受け，一方，片手廻し漁法は改良を加えられ，やがて今日の機動性漁網，所謂二艘旋巾着網の盛況を見るに至つた。

本道に於いては大正3年青森県南部方面のものに真似，無動力式揚繰網を試みたのが始めで，其後昭和9〜10年に発動機付二艘旋，揚繰網を使用するに至つた。此の点，本道に於ける旋網漁業は福岡，山口，福井各県の如く古くより朝鮮海区での鯖巾着網漁業に従事した地方より網の構成，漁法技術の点で稍々おくれを見せてゐる。尚本道海区に於ける巾着網及び揚繰網の操業状況を見るに，一般に巾着網に於いては深海漁場では漁獲率良好であり，一方，揚繰網に於いては浅海漁場で，漁獲率良好である。

当教室として此等原因を考究しつゝあり，第1報に引続き巾着網及び揚繰網の構成上から見，此処に報告す。

本研究に当り，小樽市鯖旋網本部並に富山県氷見灘漁業合同組合各位に対し衷心より感謝の意を表す。

## 2. 調 査 方 法

昭和25年〜28年の4ヶ年間に亘り，本道海区の鯖旋網漁業の漁期中（日本海区：6〜7月中旬，太平洋海区：7月下旬9月初旬）を傭船せし巾着網実習船（船籍：福井，山口。根拠地：小樽，余市，釧路，広尾）並に同根拠地の船籍を青森県八戸に有する揚繰船に積載使用する各巾着網及び揚繰網に就き調査せり。

## 3. 調 査 結 果

第1報でも示した如く，之等巾着網及び揚繰網の構成は，他の運用漁具に較べ非常に大規模であり，此の点に就いては勿論，之を積載使用する網船に就いても考慮しなければならぬ。

第1表及び第2表は昭和25〜28年の本道海区（日本海海区及び太平洋海区）で操業せし巾着船と揚繰船及び之等に積載使用する各網の大きさを示す。

第1表　巾着船の場合

| 噸数 | 馬力 | 浮子方の長さ(間) | 沈子方の長さ(間) | 網丈(間) |
|---|---|---|---|---|
| 25以下 | 45〜90 | 480〜650 | 480〜700 | 50〜70 |
| 25〜35 | 60〜160 | 500〜700 | 500〜750 | 60〜85 |
| 35〜45 | 90〜160 | 550〜750 | 550〜770 | 60〜90 |

1間：5尺とす。

第2表　揚繰船の場合

| 噸数 | 馬力 | 浮子方の長さ(間) | 沈子方の長さ(間) | 網丈(間) |
|---|---|---|---|---|
| 25以下 | 30〜84 | 390〜550 | 400〜550 | 35〜55 |
| 25以上 | 65〜120 | 400〜570 | 420〜580 | 40〜68 |

上記，第1表の巾着船の場合は第2表の揚繰船の場合よりも同一噸数時に於ける馬力及び網の大きさの点に於いても，大型にしている。勿論，之等網の構成は，各漁場に依り，多少，縮少し使用することもある。

一般に本道海区で操業する漁船は，巾着，揚繰船とも，25〜35噸級が主力を示している。尚之等，旋網漁船の馬力の点を他の釣漁船のそれと較べ，稍々高率を示しているのは漁法，揚網上，行動の敏速を必要とする為と見られる。

第3表は昭和28年，本道海区で操業せし各地の旋網許可統数及び使用網船の噸数，馬力から見た大きさを示す。

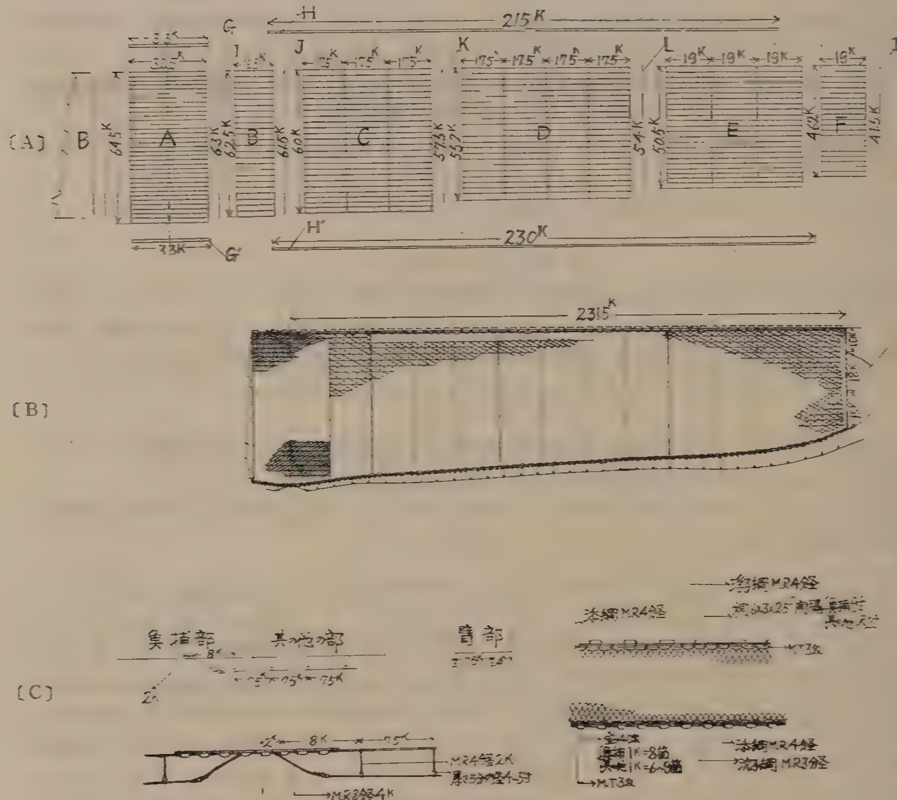
第3表　許可統数及び使用網船の大いさ

| 船籍 | 許可統数 | 平均噸数 | 平均馬力 | 噸当りの馬力数 | 最大・最小船 |
|---|---|---|---|---|---|
| 北海道 | 31 | 28.5 | 91.4 | 3.2 | 54.69ｔ：210HP<br>16.65　：45 |
| 青森 | 31 | 26.3 | 92.4 | 3.5 | 33.58　：115<br>13.6　：50 |
| 岩手 | 12 | 22.6 | 72.7 | 3.2 | 28.97　：120<br>15.55　：50 |
| 山口 | 17 | 29.6 | 99.3 | 3.35 | 43.35　：115<br>18.0　：75 |
| 長崎 | 10 | 34.1 | 118.7 | 3.48 | 58.31　：210<br>43.65　：150 |

上記，第3表の中，船籍を山口県に有する所謂，巾着船及び船籍を青森県に有する揚繰船を使用し，之等漁具の構成の点を調査した。

第1図，第2図は本道両海区で操業する揚繰網及び巾着網の代表型実例を示す。

第1図及び第2図で明かの如く，之等構成上の点を比較して見るに




第1図　鰯揚繰網設計図（K＝間）

浮　子　方　：　463間

沈　子　方　：　493間

網　　　丈　：　台の部 66.5間，臂の部 43.0間

使用漁船　：　30屯　90馬

〔A〕網地配置図　（片袖分）

〔B〕一般完成図

〔C〕浮子方及び沈子方構成図

（1）之等の各本網は巾着網に於いては主として蛙股結節にて横目に使用し，揚繰網に於いては本目結節にて横目に使用している。尚，之等網地の使用方法に就いては先に第1報にて網地の目合，太さ，結節等の関係で示した。

（2）巾着網の各本網は揚繰網より1～2号，細目のものを使用し且，使用漁船の同一噸数，馬力に対する使用網地量多く，縮結も内割，0.08～0.13少くし張り気味に，所謂，帯状に仕立上げており，一方揚繰網の方は縮結も多くし袋状にしている。

（3）巾着網の各浮子方及び沈子方縁網は極めて強力にしており，之は網の構成上，揚繰網より大型且揚網時には，ネットローラー使用の為，網擦れを防ぐにも，当然と思はれる。

（4）各浮子方，沈子方の長さ及び網丈を之等，仕立上りの点から見るに，巾着網は何れも大型にしており

第4表　　揚繰網網地見積表

| 符号 | 各局部名 | 材料 | 太さ | 目合 | 結節 | 掛目 | 切長 | 反数 | 網目 | 縮結 | 使用間数 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Ⓐ | 魚捕 | C.20′S | 10号 | 8節 | F.K | 100目 | 50 k | 34反 | 横目 | 内0.35 | 1700k |
| Ⓑ | 魚捕脇 | 〃 | 8 | 6 | 〃 | 〃 | 25 | 25×2 | 〃 | 〃 | 1250 |
| Ⓒ | 胴網（1~3脇） | 〃 | 5 | 〃 | 〃 | 〃 | 25 | (25×3)×2 | 〃 | 内0.3 | 3750 |
| Ⓓ | 〃　（4~7脇） | 〃 | 4 | 〃 | 〃 | 〃 | 25 | (23×4)×2 | 〃 | 〃 | 4600 |
| Ⓔ | 〃　（8~10脇） | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 25 | (23×3)×2 | 〃 | 内0.25 | 3450 |
| Ⓕ | 臂網 | 〃 | 5 | 〃 | 〃 | 〃 | 25 | 21×2 | 〃 | 〃 | 1050 |
| ⒼⒼ′ | 魚捕の縁網 | 〃 | 12 | 〃 | 〃 | 40 | 55 | 1×2 | 〃 | 内0.4 | 110 |
| ⒽⒽ′ | 縁網 | 〃 | 8 | 〃 | 〃 | 40<br>40 | 275<br>287.5 | 1<br>1 | 〃 | 内0.22<br>内0.2 | 275<br>287.5 |
| Ⓘ | 魚捕の裂止 | 〃 | 12 | 5 | 〃 | 7 | 84 | 1×2 | 縦目 | 内0.25 | 168 |
| Ⓙ | 胴網の裂止 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 84 | 1×2 | 〃 | 内0.27 | 168 |
| Ⓚ | 〃 | 〃 | 8 | 〃 | 〃 | 〃 | 72 | 1×2 | 〃 | 内0.2 | 144 |
| Ⓛ | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 72 | 1×2 | 〃 | 内0.25 | 144 |
| Ⓜ | 端縁網 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 64 | 1×2 | 〃 | 内0.35 | 128 |

C. 20′S　：　綿糸20番手
F. K　　：　本目結節
K　　　：　間（1間＝5尺）

第5表　　揚繰網各綱類見積表

| 名称 | 材料 | 使用量 |
|---|---|---|
| 浮子綱 | M.R | 4分径　470k |
| 同添綱 | M.R | 4分径　470 |
| 沈子綱 | M.R | 3分径　500 |
| 同添綱 | M.R | 4分径　500 |
| 手綱 | M.R | 6分径　60k　4条 |
| 渡綱 | M.R | 8分径　4k　2条 |
| 股綱 | M.R | 4分径　25k　2条 |
| 同曳綱 | M.R | 4分径　35k　2条 |
| 目通 | M.T | 3匁付 |
| 締括綱 | W.R | 4~5分径　300k　2条 |
| 環吊綱 | M.R | 4分径 魚捕：脇：各2k<br>胴(1~7脇)：各4k<br>〃　8脇：5k<br>其の他：6k |

M.R：マニラロープ
W.R：ワイヤーロープ
M.T：マニラトワイン
K：間（1間＝5尺）

網丈は魚捕，臂を殆んど同長に仕立上げ一方，揚繰網に於いては，臂網の網丈を魚捕の0.6~0.7倍に短縮し仕立上げている。

（5）各浮子方，沈子方の構成，其の他，環綱及び締括綱等の取付状況を各網の投網，揚網上の点より見るに，巾着網に於いては投網後，網の沈下早く，且，締括綱が一貫しているので，魚群包囲，揚網の点では極めて有利である。一方，揚繰網に於いては締括綱が魚捕部で二つに分れ且，環の手の取付状況から見ても締括綱の締括力が一様に沈子方全体に働かず，巾着網に較べ弱い様である。

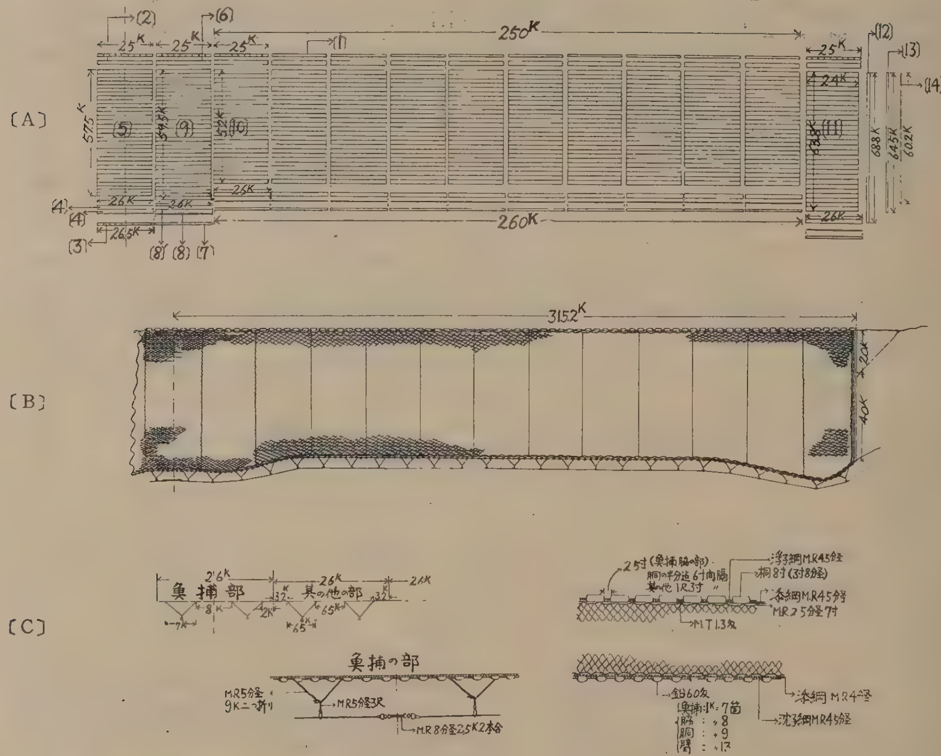
次ぎに，之等，巾着網及び揚繰網の本道海区での操業状況を見るに，たまたま破網を生じ，之が原因を調査した。

第3図，第4図は巾着網及び揚繰網中の調査網の日本海区及び太平洋海区に於ける操業状況を示し，第8表，第9表は之等の破網状況を示す。

○大破：浮子方又は沈子方と本網部の破網……漁獲全然なし

○中破：各縁網と本網部の一部破網……漁獲1000貫以下

○小破：本網中，臂又は胴の一部破網……漁獲1000～3000貫




第２図　鯖巾着網設計図（K＝間）

浮子方：630.5間

沈子方：653.0間

網丈：台の部 63.5間　臂の部 60.2間

使用漁船：30톤 90 IP

〔A〕網地配置図　（片袖分）

〔B〕一般完成図

〔C〕浮子方及び沈子方構成図

即，之等，調査網の操業状況を見るに

（1）巾着網は揚繰網に較べ，浅海漁場では，破網率比較的多く，一般に，浅海漁場よりも深海漁場での漁獲率良好である。

（2）揚繰網は巾着網に較べ，浅海及び深海漁場での破網率少く，特に浅海漁場での漁獲率良好である。

（3）此等，両網の破網時期は，投網時よりも揚網時の方が多い。

（4）破網の原因は，網の積載法，投網準備の不完全，其の他，他船の妨害，海況，海底状況に依る網及び各綱類の顛絡等が考えられる。

## 4．総　　括

以上，本道海区で操業する巾着網及び揚繰網を，それらの構成上から見るに，巾着網は其の構成規模は，

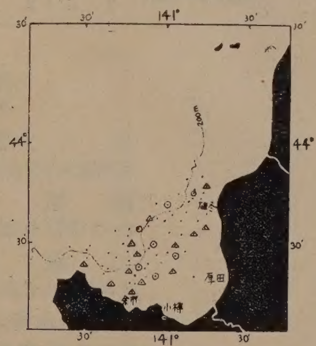
第6表　巾着網網地見積表　（T.K:蛙股結節）

| 符号 | 各局部名 | 材料 | 太さ | 目合 | 結節 | 掛目 | 切長 | 反数 | 網目 | 縮結 | 使用間数 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ① | 浮子方縁網 | C.20′S | 20号 | 6節 | F.K | 100目 | 0.7k<br>(20目) | 9×25 | 縦目 | 内<br>0.45 | k<br>157.5 |
| ② | 魚捕の上目 | 〃 | 7 | 7 | T.K | 〃 | 32 | 1 | 横目 | 0.22 | 32 |
| ③ | 魚捕の沈子方縁網 | 〃 | 30 | 6 | F.K | 〃 | 0.7 | 9.5 | 縦目 | 0.45 | 6.7 |
| ④④′ | 魚捕の下目 | 〃 | 10<br>7 | 7 | T.K | 〃 | 32—<br>32— | 1<br>1 | 横目 | 0.19 | 32<br>32 |
| ⑤ | 魚捕の本網 | 〃 | 6 | 〃 | 〃 | 〃 | 32 | 32 | 〃 | 0.22 | 1024 |
| ⑥ | 台脇,胴,臂の上目 | 〃 | 7 | 6 | 〃 | 〃 | 32 | 12×2 | 〃 | 〃 | 768 |
| ⑦ | 同上沈子方縁網 | M.T | 1.3匁 | 3寸 | F.K | 10 | 30 | 12×2 | 〃 | 0.13 | 720 |
| ⑧⑧′ | 同上の下目 | C.20′S | 15号<br>7 | 6節 | T.K | 5<br>100 | 30<br>32 | 12×2<br>12×2 | 〃 | 0.13<br>0.18 | 720<br>768 |
| ⑨ | 台脇の本網 | 〃 | 5 | 7 | 〃 | 100 | 32 | 33×2 | 〃 | 0.22 | 2112 |
| ⑩ | 胴網の本網 | 〃 | 4 | 6 | 〃 | 〃 | 32 | (26×10)<br>×2 | 〃 | 〃 | 16640 |
| ⑪ | 臂網の本網 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 〃 | 32 | 29×2 | 〃 | 0.25 | 1856 |
| ⑫ | 端縁網 | 〃 | 8 | 〃 | F.K | 〃 | 80 | 1×2 | 縦目 | 0.14 | 160 |
| ⑬ | 端縁網 | 〃 | 15 | 〃 | 〃 | 50 | 75 | 1×2 | 〃 | 〃 | 150 |
| ⑭ | 端縁網 | M.T | 1.3匁 | 3寸 | 〃 | 15 | 70 | 1×2 | 〃 | 〃 | 140 |

第7表　巾着網各綱類見積表

| 名称 | 材料 | 使用量 |
|---|---|---|
| 浮子綱 | M.R | 4.5分径　635k |
| 同添綱 | M.R | 4.5～5分径　635 |
| 沈子綱 | M.R | 4分径　660 |
| 同添綱 | M.R | 4.5分径　660 |
| 手綱 | M.R | 9分径　66k4条 |
| 渡綱 | M.R | 8分径　2.5k2条 |
| 目通 | M.R | 2.5分径 |
| 股綱 | M.R | 5分径　45k　2条 |
| 締括綱 | W.R | 魚捕を中心に左右<br>120K:6分径其の他:5分径 |
| 環吊綱 | M.R | 環の叉綱(5分径) {魚捕.脇.臂は9kを折半す 胴は10kを折半<br>環の手(5分径) {魚捕,脇.臂は0.6k 胴は1.2k |

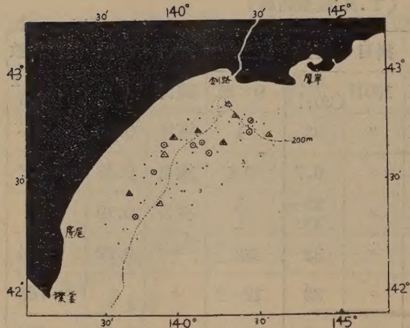
一方，揚繰網は其の構成規模小さく，沈降力の点から見ても，巾着網の如く浅海漁場では破網多くなく，漁獲率良好である。然しながら深海漁場に於いては，沈降力大きく，浅海漁場では海底に於いて網裾及び締括綱等の絡み合い，又は底質に依り之等の潜入の為，破網を生じ，然しながら深海漁場に於いては，締括綱が一貫しており，魚群包囲速度速く，且，機力（ネットローラー）に依り揚網が容易な為，漁獲良好である。




第3図　日本海区に於ける調査網の操業状況
・　調査網の投網地点
⊙　揚繰網の破網
—　巾着網の破網

巾着網より縮結を多く入れ，沈降力小さく，且，締括綱が一貫しておらず，魚群の包囲速度おそく，其の為鯖の垂直移動に依り，たまたま，漁獲の好時期を逸す。

筆者等は今後，更に此等，巾着網及び揚繰網の構成漁法の点に就き考究する必要を認む。




第4図　太平洋海区の於ける調査網の操業状況

・　調査網の抜網地点
⦿　揚繰網の破網
△　巾着網の破網


## 文　　献

(1) 北海道水産研究会 (1950). 石狩湾に於ける鯖旋網漁業.

(2) 山田栄三郎 (1950). 若狭湾に於ける鯖巾着網漁業.

(3) Scofield. W. L. (1951). Purse seines and other roundhaul nets in California. *Fish. Bull.* 81.


第8表　日本海区の調査網の破網状況
(昭和27年6月16～7月8日)

| | 巾着網 | | | 揚繰網 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 破網回数 | 13 | | | 7 | | |
| 大破 | 2 | | | 1 | | |
| 中破 | 7 | | | 3 | | |
| 小破 | 4 | | | 3 | | |
| 投網時の破網 | 大破 | 中破 | 小破 | 大破 | 中破 | 小破 |
| | ／ | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 |
| 揚網時の破網 | 大破 | 中破 | 小破 | 大破 | 中破 | 小破 |
| | 2 | 5 | 2 | ／ | 2 | 1 |

第9表　太平洋海区の調査網の破網状況
(昭和27年7月27日～8月25日)

| | 巾着網 | | | 揚繰網 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 破網回数 | 9 | | | 8 | | |
| 大破 | 3 | | | 1 | | |
| 中破 | 5 | | | 5 | | |
| 小破 | 1 | | | 2 | | |
| 投網時の破網 | 大破 | 中破 | 小破 | 大破 | 中破 | 小破 |
| | 1 | 1 | ／ | ／ | 1 | 1 |
| 揚網時の破網 | 大破 | 中破 | 小破 | 大破 | 中破 | 小破 |
| | 2 | 4 | 1 | 1 | 4 | 1 |

昭和29年5月1日印刷
昭和29年5月15日発行

編集人　元　田　　茂
函館市港町253　北海道大学水産学部
印刷所　第　一　印　刷
函館市恵比須町1の2
印刷人　板　垣　雄　二
函館市恵比須町1の2
発行所　北海道大学水産学部
函館市港町253

BULLETIN
OF THE
FACULTY OF FISHERIES
HOKKAIDO UNIVERSITY

Vol. 5, No. 1.

CONTENTS